

EMMANOEL VILAÇA COSTA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *GUATTERIOPSIS*
BLEPHAROPHYLLA, *GUATTERIOPSIS FRIESIANA* E *GUATTERIOPSIS HISPIDA* (ANNONACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química, Área de concentração em Química
Orgânica, Setor de Ciências Exatas, Universidade
Federal do Paraná, como requisito parcial para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

CURITIBA

2009

EMMANOEL VILAÇA COSTA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *GUATTERIOPSIS*
BLEPHAROPHYLLA, *GUATTERIOPSIS FRIESIANA* E *GUATTERIOPSIS HISPIDA* (ANNONACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química Orgânica, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia.
Co-Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Belém Pinheiro.

CURITIBA

2009

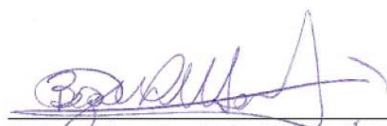
TERMO DE APROVAÇÃO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *GUATTERIOPSIS*
BLEPHAROPHYLLA, *GUATTERIOPSIS FRIESIANA* E *GUATTERIOPSIS HISPIDA*
(ANNONACEAE)**

por

EMMANOEL VILAÇA COSTA

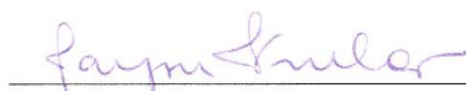
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



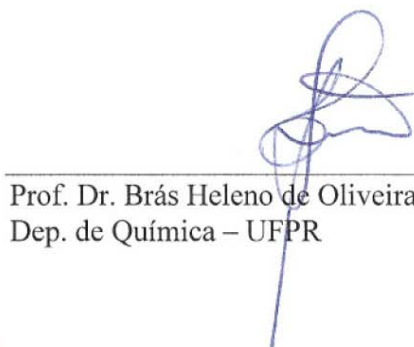
Orientador: Profª Drª Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia
Dep. de Química – UFPR



Profª Drª Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva
Dep. de Química – UFSCar



Profª. Dra. Maysa Furlan
Inst. de Química – UNESP



Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Francisco de Assis Marques
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 26 de janeiro de 2009

DEDICATÓRIA

À minha esposa, Ana Paula Marques Costa e à minha filha Ana Clara Marques Costa, pelo amor, paciência, compreensão e companheirismo durante todo o período de realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em todos os momentos importantes da minha vida.

Ao Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, que oferece oportunidade para a formação e aperfeiçoamento de profissionais na Química, em especial na área de Química Orgânica.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de doutorado, sem a qual não seria possível a minha dedicação exclusiva ao desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia, por ter aceitado o desafio de orientar um aluno vindo de longe (Manaus, Amazonas). Agradeço por sua orientação durante todos estes anos trabalhando juntos, que contribuiu para o meu crescimento profissional.

À minha Co-Orientadora Prof^a. Dra. Maria Lúcia Belém Pinheiro, pela co-orientação, amizade e apoio desde a época da Graduação.

Aos membros da banca examinadora da qualificação Profs. Dr. Fábio Simonelli, Dr. Francisco de Assis Marques, Dra. Ana Luisa Lacava Lordello e Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia (presidente) pela leitura paciente da pré-tese, bem como por todas as correções e sugestões feitas.

Aos Profs. Dr. Francisco de Assis Marques, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), e Dr. José Roberto Trigo, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), por ceder seu laboratório para análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

À Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte e ao Dr. João Ernesto de Carvalho, bem como seus respectivos colaboradores Camila Delarmelina e Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), pela realização dos ensaios de atividades antimicrobiana e antiproliferativa (antitumoral).

Ao Prof. Dr. Andersson Barison pela obtenção dos espectros de NOE 1D a 400 MHz.

À Prof^a. Dra. Raquel Marques Braga pela obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear - RMN a 500 MHz, e ao Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin pelas análises de massas de alta resolução, ambos pertencentes ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Ao Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pelas análises de difração de Raio X.

Aos amigos Francinete Ramos Campos e Andersson Barison, pela amizade, companheirismo e apoio desde a época de mestrado.

Ao colega Gustavo Frensch pela ajuda nas medidas de rotação ótica, bem como nas análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

A todos os professores e pesquisadores do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, que de alguma maneira contribuíram para a minha formação profissional.

Aos colegas de laboratório Érica Luiz dos Santos, Nelissa Pacheco Vaz, Jéssica Hirota, Letícia Ferrari Lemos Barros e Maria Helena Verdan, pelas nossas conversas e troca de experiências profissionais, que contribuíram para tornar este período mais ameno.

A todos os colegas que tive oportunidade de conhecer durante a minha passagem pelo Curso de Pós-Graduação em Química: Sandra Castaman, Silvana Castaman, Geibe Garcia Fernandes, José Augusto Villar, Alessandra Machado Baron, Nelissa Pacheco Vaz, Cesar Arthur Martins Chornobai, Alexandre Augusto de Oliveira e todos os demais.

Aos meus pais, Edilberto Lima Costa e Maria do Perpétuo Socorro Vilaça Costa, aos meus irmãos Emmanuela Vilaça Costa e Edilberto Lima Costa Júnior, e ao meu querido sobrinho Gabriel Costa Pinto, que estiveram longe de mim durante todo o período de tese, mas que apesar da grande distância e das saudades, sempre me apoiaram.

À minha querida esposa, Ana Paula Marques Costa, e à minha querida filha Ana Clara Marques Costa, pela força, carinho, compreensão e companheirismo dos quais sempre precisei durante todo este período para a finalização deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e, conseqüentemente, para a minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ESQUEMAS	xii
LISTA DE ESPECTROS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xviii
ABSTRACT	Xx
KEY-WORDS	xxii
RESUMO	xxii
PALAVRAS-CHAVES	xxv
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA ANNONACEAE	04
2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E USOS POPULARES	04
2.3. FITOQUÍMICA DA FAMÍLIA ANNONACEAE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS	08
2.3.1. ALCALÓIDES APORFINÓIDES E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS	11
2.3.2. ALCALÓIDES PROTOBERBERINOS E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS	15
2.4. O GÊNERO <i>GUATTERIOPSIS</i> R.E. FRIES (1934)	16
2.4.1. <i>GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA</i> (MART.) R.E. FRIES (1934)	18
2.4.2. <i>GUATTERIOPSIS FRIESIANA</i> W.A. RODRIGUES (1981)	19
2.4.3. <i>GUATTERIOPSIS HISPIDA</i> R.E. FRIES (1934)	19
2.5. BIOSÍNTESE DOS ALCALÓIDES	20
2.5.1. BIOSÍNTESE DOS APORFINÓIDES	21
2.5.2. BIOSÍNTESE DOS PROTOBERBERINOS E TETRAIDROPROTOBERBERINOS	27
3. OBJETIVOS	29
3.1. GERAL	29
3.2. ESPECÍFICOS	29
4. METODOLOGIA	30
4.1. SUPORTES PARA CROMATOGRAFIA	30
4.2. EQUIPAMENTOS	30
4.3. COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	32
4.4. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	32
4.5. EXTRAÇÃO DAS BASES (ALCALÓIDES) PRESENTES NOS EXTRATOS METANÓLICOS ATIVOS	34
4.6. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DOS EXTRATOS HEXÂNICOS BIOATIVOS	35
4.6.1. <i>GUATTERIOPSIS FRIESIANA</i>	35
4.6.1.1. FCH	35
4.6.1.1.1. ESTUDO DE F-9	36
4.6.1.1.2. ESTUDO DE F-11	38
4.6.1.2. FCEH	40
4.6.1.2.1. ESTUDO DE F-8	41
4.6.1.2.2. ESTUDO DE F-9	41
4.6.1.3. FFH	41
4.6.1.3.1. ESTUDO DE F-12	42
4.6.1.3.2. ESTUDO DE F-14	44
4.6.1.3.3. ESTUDO DE F-15	46
4.6.2. <i>GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA</i>	46
4.6.2.1. BCH	46
4.6.2.1.1. ESTUDO DE F-4	47
4.6.2.1.2. ESTUDO DE F-5	48
4.6.2.1.3. ESTUDO DE F-6	49
4.6.2.2. BCEH	50
4.7. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DAS FRAÇÕES ALCALOÍDICAS PROVENIENTES DOS EXTRATOS METANÓLICOS BIOATIVOS	51
4.7.1. <i>GUATTERIOPSIS FRIESIANA</i>	51
4.7.1.1. FCMA	51
4.7.1.1.1. ESTUDO DE F-3	52
4.7.1.1.2. ESTUDO DE F-4	53
4.7.1.1.3. ESTUDO DE F-5	54

4.7.1.1.4. ESTUDO DE F-6	54
4.7.1.1.5. ESTUDO DE F-8	55
4.7.1.1.6. ESTUDO DE F-10	56
4.7.1.1.7. ESTUDO DE F-13	57
4.7.1.1.8. ESTUDO DE F-15	58
4.7.1.2. FCEMA	58
4.7.1.2.1. ESTUDO DE F-3	59
4.7.1.2.2. ESTUDO DE F-4	59
4.7.1.2.3. ESTUDO DE F-5	60
4.7.1.2.4. ESTUDO DE F-7	61
4.7.1.3. FFMA	61
4.7.1.3.1. ESTUDO DE F-4	62
4.7.1.3.2. ESTUDO DE F-5	63
4.7.1.3.3. ESTUDO DE F-10	64
4.7.1.3.4. ESTUDO DE F-11	64
4.7.2. <i>GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA</i>	65
4.7.2.1. BCMA	65
4.7.2.1.1. ESTUDO DE F-4	66
4.7.2.1.2. ESTUDO DE F-5	66
4.7.2.1.3. ESTUDO DE F-6	67
4.7.2.1.4. ESTUDO DE F-8	67
4.7.2.1.5. ESTUDO DE F-10	68
4.7.2.2. BCEM	68
4.7.2.2.1. ESTUDO DE F-4	69
4.7.2.2.2. ESTUDO DE F-5	70
4.8. ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS ESPÉCIES DE <i>GUATTERIOPSIS</i>	70
4.8.1. EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E METODOLOGIA DE ANÁLISE	70
4.8.2. ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	71
4.8.3. ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>GUATTERIOPSIS FRIESIANA</i> (FFOE)	72
4.8.4. ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA</i> (BFOE)	73
4.9. ENSAIOS BIOLÓGICOS	73
4.9.1. TOXICIDADE SOBRE <i>ARTEMIA SALINA</i> (TAS)	73
4.9.2. ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA (ATIVIDADE ANTITUMORAL <i>IN VITRO</i>)	74
4.9.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA (CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA – CIM)	76
4.9.3.1. MICRORGANISMOS	76
4.9.3.2. MEIOS DE CULTURA	77
4.9.3.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	77
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5.1. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DAS ESPÉCIES DE <i>GUATTERIOPSIS</i>	87
5.1.1. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7,7-DIMETILAPORFINOS	87
5.1.1.1. DETERMINAÇÃO DE G14, G15, G16, G17, G18, G19, G21, G22, G23, G24, G27, G29, G30, G31, G32, G33 E G38	87
5.1.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7-HIDROXI-7-METILAPORFINOS	122
5.1.2.1. DETERMINAÇÃO DE G25 E G39	122
5.1.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO OXOAPORFINOS	128
5.1.3.1. DETERMINAÇÃO DE G26, G28, G34, G40, G41, G45 E G48	128
5.1.4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO APORFINOS	140
5.1.4.1. DETERMINAÇÃO DE G46.....	140
5.1.4.2. DETERMINAÇÃO DE G49	142
5.1.5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO PROTOBERBERÍNICOS	145
5.1.5.1. DETERMINAÇÃO DE G35, G36, G37, G42 E G47	145
5.1.5.2. DETERMINAÇÃO DE G43 E G44	157
5.1.6. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS SESQUITERPENÓIDES	162
5.1.6.1. DETERMINAÇÃO DE G7, G8 E G9	162
5.1.6.2. DETERMINAÇÃO DE G11	166
5.1.6.3. DETERMINAÇÃO DE G13	167
5.1.7. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ESTERÓIDES	169

5.1.7.1. DETERMINAÇÃO DE G1	169
5.1.8. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS LACTONAS SESQUITERPÊNICAS	171
5.1.8.1. DETERMINAÇÃO DE G2	171
5.2. ATIVIDADES BIOLÓGICAS	174
5.2.1. TOCIXIDADE SOBRE <i>ARTEMIA SALINA</i> (TAS)	174
5.2.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	176
5.2.3. ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA (ANTITUMORAL)	182
5.3. ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS ESPÉCIES DE <i>GUATTERIOPSIS</i>	187
5.3.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA	187
5.3.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	189
5.4. RELAÇÕES QUIMIOTAXONÔMICAS ENTRE OS GÊNEROS <i>GUATTERIA</i> E <i>GUATTERIOPSIS</i>	193
6. CONCLUSÕES	197
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	199
ANEXO I – ESPECTROS	209
ANEXO II – DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS	339
ANEXO III – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	350

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Usos populares e atividades farmacológicas comprovadas de algumas espécies da família Annonaceae	07
TABELA 2.	Classificação Taxonômica das espécies em estudo	17
TABELA 3.	Obtenção dos Extratos	33
TABELA 4.	Rendimento da extração ácido-base dos extratos metanólicos bioativos	34
TABELA 5.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico da casca de <i>G. friesiana</i> (FCH)	35
TABELA 6.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico do cerne de <i>G. friesiana</i> (FCEH)	40
TABELA 7.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico das folhas de <i>G. friesiana</i> (FFH)	42
TABELA 8.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico da casca de <i>G. blepharophylla</i> (BCH)	47
TABELA 9.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico do cerne de <i>G. blepharophylla</i> (BCEH)	50
TABELA 10.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica da casca de <i>G. friesiana</i> (FCMA)	51
TABELA 11.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica do cerne de <i>G. friesiana</i> (FCEMA)	59
TABELA 12.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica das folhas de <i>G. friesiana</i> (FFMA)	61
TABELA 13.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica da casca de <i>G. blepharophylla</i> (BCMA)	65
TABELA 14.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica do cerne de <i>G. blepharophylla</i> (BCEMA)	69
TABELA 15.	Características dos óleos essenciais de <i>Guatteriopsis</i>	71
TABELA 16.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do óleo essencial de <i>G. friesiana</i> (FFOE)	72
TABELA 17.	Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do óleo essencial de <i>G. blepharophylla</i> (BFOE)	73
TABELA 18.	Linhagens de células tumorais humanas a serem utilizadas no ensaio de atividade antiproliferativa	75
TABELA 19.	Compostos isolados das espécies de <i>Guatteriopsis</i> estudadas	81
TABELA 20.	Classe de alcalóides isolados das espécies de <i>Guatteriopsis</i> estudadas	82
TABELA 21.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G14^a	89
TABELA 22.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G15^a	91
TABELA 23.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G16^a	93
TABELA 24.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G17^a	95
TABELA 25.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G18^a	96
TABELA 26.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G19^a	98
TABELA 27.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G20^a	100
TABELA 28.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G21^a	102
TABELA 29.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G22^a	105
TABELA 30.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G23^a	107
TABELA 31.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G24^a	109
TABELA 32.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G27^a	111
TABELA 33.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G29^a	112
TABELA 34.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G30^a	114
TABELA 35.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G31^a	116
TABELA 36.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G32^a	118
TABELA 37.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G33^a	120
TABELA 38.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G38^a	122
TABELA 39.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G25^a	125
TABELA 40.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G39^a	127
TABELA 41.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G26^a	130
TABELA 42.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G28^a	131
TABELA 43.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G34^a	134

TABELA 44.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G40^a	135
TABELA 45.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G41^a	136
TABELA 46.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G45^a	137
TABELA 47.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G48^a	139
TABELA 48.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G46^a	142
TABELA 49.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G49A^a e G49B^a	144
TABELA 50.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G35^a	148
TABELA 51.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G36^a	150
TABELA 52.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G37^a	152
TABELA 53.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G42^a	154
TABELA 54.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G47^a	156
TABELA 55.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G43^a	159
TABELA 56.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G44^a	162
TABELA 57.	Dados de RMN de ^{13}C de G7 , G8 e G9^{a,b}	165
TABELA 58.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de G11^a	167
TABELA 59.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de G13^a	168
TABELA 60.	Dados de RMN de ^{13}C de G1A^a e G1B^a	170
TABELA 61.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para G2^a	174
TABELA 62.	Toxicidade sobre <i>Artemia salina</i> dos extratos brutos e frações clorofórmicas alcaloídicas e neutras das espécies de <i>Guatteriaopsis</i> (<i>G. blepharophylla</i> , <i>G. friesiana</i> e <i>G. hispida</i>)	176
TABELA 63.	Valores de CIM para os extratos brutos, frações clorofórmicas alcaloídicas e neutras	179
TABELA 64.	Valores de CIM para as substâncias puras isoladas	180
TABELA 65.	Valores de TGI (<i>Total Growth Inhibition</i>) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os extratos brutos e frações alcaloídicas e neutras	184
TABELA 66.	Valores de TGI (<i>Total Growth Inhibition</i>) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os compostos puros isolados	185
TABELA 67.	Composição química do óleo essencial das folhas das espécies de <i>Guatteriaopsis</i>	188
TABELA 68.	Valores de CIM para os óleos essenciais, compostos puros e misturas A e B das espécies de <i>Guatteriaopsis</i>	192

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Distribuição geográfica da família Annonaceae.	04
FIGURA 2.	Imagens de algumas espécies frutíferas de Annonaceae.	06
FIGURA 3.	Exemplos de alcalóides derivados do esqueleto isoquinolínico.	09
FIGURA 4.	Exemplos de compostos não alcaloídico isolados de espécies de Annonaceae. .	10
FIGURA 5.	Esqueletos básicos dos aporfinóides.	11
FIGURA 6.	Síntese da apomorfina.	12
FIGURA 7.	Imagens da espécie <i>G. blepharophylla</i> . (a) árvore; (b) casca e caule; (c) folhas e frutos; e (d) inflorescência.	18
FIGURA 8.	Imagens da espécie <i>G. friesiana</i> . (a) árvore; (b) casca e caule; e (c) folhas e frutos.	19
FIGURA 9.	Imagens da espécie <i>G. hispida</i> . (a) folha; (b) caule; (c) casca e cerne; e (d) frutos.	20
FIGURA 10.	Formação de base de Schiff e reação de Mannich.	20
FIGURA 11.	Esqueleto básico dos alcalóides benziltetraidroisoquinolinos.	21
FIGURA 12.	Biossíntese dos alcalóides benziltetraidroisoquinolinos.	22
FIGURA 13.	Biossíntese dos alcalóides aporfinícos.	23
FIGURA 14.	Biossíntese dos alcalóides aporfinos a partir do intermediário proaporfino (glaziovina).	24
FIGURA 15.	Biossíntese dos alcalóides aporfinos a partir de um intermediário proaporfino (orientalinona).	24
FIGURA 16.	Biossíntese dos alcalóides oxoaporfinícos.	25
FIGURA 17.	Biossíntese geral para os alcalóides aporfinos 7-substituídos (X e Y = CH_3 e	

	OH).	26
FIGURA 18.	Biossíntese geral para os alcalóides fenantrenos.	26
FIGURA 19.	Biossíntese dos alcalóides tetraidroprotoberberinos e protoberberinos.	28
FIGURA 20.	Esqueletos básicos dos alcalóides isolados das espécies de <i>Guatterioopsis</i>	80
FIGURA 21.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G14	89
FIGURA 22.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G15	90
FIGURA 23.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G16	92
FIGURA 24.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G17	94
FIGURA 25.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G18	96
FIGURA 26.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G19	98
FIGURA 27.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G20	100
FIGURA 28.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G21	102
FIGURA 29.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G22	104
FIGURA 30.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G23	106
FIGURA 31.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G24	108
FIGURA 32.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G27	110
FIGURA 33.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G29	112
FIGURA 34.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G30	114
FIGURA 35.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G31	116
FIGURA 36.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G32	118
FIGURA 37.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G33	120
FIGURA 38.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G38	121
FIGURA 39.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G25	124
FIGURA 40.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G39	127
FIGURA 41.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G26	129
FIGURA 42.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G28	131
FIGURA 43.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de G34	133
FIGURA 44.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G45	137
FIGURA 45.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G48	139
FIGURA 46.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G46	141
FIGURA 47.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC da mistura dos alcalóides G49A e G49B	144
FIGURA 48.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOESY de G35	147
FIGURA 49.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOESY de G36	150
FIGURA 50.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G37	152
FIGURA 51.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOE 1D de G42	154
FIGURA 52.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOE 1D de G47	156
FIGURA 53.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOE 1D de G47	159
FIGURA 54.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G44	161
FIGURA 55.	Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de G2	173
FIGURA 56.	Raio X de G2	173
FIGURA 57.	Substâncias majoritárias testadas no ensaio de atividade antimicrobiana. Composto G3 foi testado, porém ainda não foi determinada a sua estrutura molecular.	181
FIGURA 58.	Substâncias majoritárias testadas no ensaio de atividade antiproliferativa.	

	Compostos G3 e G12 foram testados, porém ainda não foram determinadas as suas estruturas moleculares.	186
FIGURA 59.	Representação do grupo <i>Guatteria</i> . (A) <i>Guatteria</i> sp; (B) <i>Guatterriopsis blepharophylla</i> ; (C) <i>Guatterrella tomentosa</i> ; (D) <i>Heteroptalum spruceanum</i>	195
FIGURA 60.	Representação esquemática das relações entre os membros que formam o grupo <i>Guatteria</i> (ERKENS <i>et al.</i> , 2007; triângulos indicam clados recobertos). ..	196

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1.	Fluxograma de obtenção dos extratos.	33
ESQUEMA 2.	Metodologia para extração dos alcalóides presentes nos extratos metanólicos bioativos.	35
ESQUEMA 3.	Estudo de F-9.	37
ESQUEMA 4.	Isolamento de G1 e G2	38
ESQUEMA 5.	Isolamento de G2	38
ESQUEMA 6.	Estudo de F-11.	39
ESQUEMA 7.	Isolamento de G4 e G5	39
ESQUEMA 8.	Isolamento de G4 e G3	40
ESQUEMA 9.	Isolamento de G3 e G6	40
ESQUEMA 10.	Isolamento de G1	41
ESQUEMA 11.	Isolamento de G2	41
ESQUEMA 12.	Estudo de F-12.	43
ESQUEMA 13.	Isolamento de G7 , G8 e G9	43
ESQUEMA 14.	Isolamento de G1 e G2	44
ESQUEMA 15.	Isolamento de G3 , G4 , G5 e G6	45
ESQUEMA 16.	Isolamento de G10	46
ESQUEMA 17.	Isolamento de G11 e G12	48
ESQUEMA 18.	Isolamento de G12 e G13	49
ESQUEMA 19.	Isolamento de G1	50
ESQUEMA 20.	Isolamento de G14 e G15	53
ESQUEMA 21.	Isolamento de G14 , G15 , G16 , G17 , G18 , G19 e G20	53
ESQUEMA 22.	Isolamento de G21 e G22	54
ESQUEMA 23.	Isolamento de G21 , G22 , G23 , G24 e G25	55
ESQUEMA 24.	Isolamento de G25 , G26 , G27 , G28 , G29 , G30 e G31	56
ESQUEMA 25.	Isolamento de G28 , G32 e G33	57
ESQUEMA 26.	Isolamento de G6	57
ESQUEMA 27.	Isolamento de G3 e G34	58
ESQUEMA 28.	Isolamento de G15 e G20	59
ESQUEMA 29.	Isolamento de G28 e G22	60
ESQUEMA 30.	Isolamento de G22 e G35	60
ESQUEMA 31.	Isolamento de G36	61
ESQUEMA 32.	Isolamento de G17 e G22	62
ESQUEMA 33.	Isolamento de G22 , G37 , G38 , G39 , G26 , G28 , G40 , G41 e G42	63
ESQUEMA 34.	Isolamento de G43 e G44	64
ESQUEMA 35.	Isolamento de G44	65
ESQUEMA 36.	Isolamento de G45 , G26 e G46	66
ESQUEMA 37.	Isolamento de G26 , G28 e G46	66
ESQUEMA 38.	Isolamento de G47	67
ESQUEMA 39.	Isolamento de G48	68
ESQUEMA 40.	Isolamento de G34	68
ESQUEMA 41.	Isolamento de G26 e G28	69
ESQUEMA 42.	Isolamento de G47 e G49	70
ESQUEMA 43.	Isolamento de G7 , G8 e G9	72
ESQUEMA 44.	Isolamento de G11	73

LISTA DE ESPECTROS

E1.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G14 .	210
E2.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G14 .	210
E3.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G14 .	211
E4.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G14 .	211
E5.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G14 .	212
E6.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G14 .	212
E7.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G14 .	213
E8.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G14 .	213
E9.	Espectro de massas de alta resolução de G15 (HRESIMS+).	214
E10.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G15 .	214
E11.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G15 .	215
E12.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G15 .	215
E13.	Espectro de RMN de ¹³ C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl ₃) de G15 .	216
E14.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G15 .	216
E15.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G15 .	217
E16.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G16 .	217
E17.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G16 .	218
E18.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G16 .	218
E19.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G16 .	219
E20.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G16 .	219
E21.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G16 .	220
E22.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G17 .	220
E23.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G17 .	221
E24.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G17 .	221
E25.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G17 .	222
E26.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G17 .	222
E27.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G17 .	223
E28.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G18 .	223
E29.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G18 .	224
E30.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G18 .	224
E31.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G18 .	225
E32.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G18 .	225
E33.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G18 .	226
E34.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G19 .	226
E35.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G19 .	227
E36.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G19 .	227
E37.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G19 .	228
E38.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G19 .	228
E39.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G19 .	229
E40.	Espectro de massas de alta resolução de G20 (HRESIMS+).	229
E41.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G20 .	230
E42.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G20 .	230
E43.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G20 .	231
E44.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G20 .	231
E45.	Espectro de RMN de ¹³ C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl ₃) de G20 .	232
E46.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G20 .	232
E47.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G20 .	233
E48.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G21 .	233
E49.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G21 .	234
E50.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G21 .	234
E51.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G21 .	235
E52.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G21 .	235
E53.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G21 .	236
E54.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G21 .	236
E55.	Espectro de massas de alta resolução de G22 (HRESIMS+).	237

E56.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G22 .	237
E57.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G22 .	238
E58.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G22 .	238
E59.	Espectro de RMN de ¹³ C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl ₃) de G22 .	239
E60.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G22 .	239
E61.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G22 .	240
E62.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G23 .	240
E63.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G23 .	241
E64.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G23 .	241
E65.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G23 .	242
E66.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G23 .	242
E67.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G23 .	243
E68.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G23 .	243
E69.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G24 .	244
E70.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G24 .	244
E71.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G24 .	245
E72.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G24 .	245
E73.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G24 .	246
E74.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G24 .	246
E75.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G24 .	247
E76.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G27 .	247
E77.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G27 .	248
E78.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G27 .	248
E79.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G27 .	249
E80.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G27 .	249
E81.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G27 .	250
E82.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G27 .	250
E83.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G29 .	251
E84.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G29 .	251
E85.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G29 .	252
E86.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G29 .	252
E87.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G29 .	253
E88.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G29 .	253
E89.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G30 .	254
E90.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G30 .	254
E91.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G30 .	255
E92.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G30 .	255
E93.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G30 .	256
E94.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G31 .	256
E95.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G31 .	257
E96.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G31 .	257
E97.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G31 .	258
E98.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G31 .	258
E99.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G31 .	259
E100.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G31 .	259
E101.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G32 .	260
E102.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G32 .	260
E103.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G32 .	261
E104.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G32 .	261
E105.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G32 .	262
E106.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G32 .	262

E107.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G32 .	263
E108.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G33 .	263
E109.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G33 .	264
E110.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G33 .	264
E111.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G33 .	265
E112.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G33 .	265
E113.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G33 .	266
E114.	Experimentos de NOE 1D (CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G33 .	266
E115.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G38 .	267
E116.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G38 .	267
E117.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G38 .	268
E118.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G38 .	268
E119.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G38 .	269
E120.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G38 .	269
E121.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G38 .	270
E122.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G25 .	270
E123.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G25 .	271
E124.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G25 .	271
E125.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G25 .	272
E126.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G25 .	272
E127.	Espectro de RMN de ¹³ C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl ₃) de G25 .	273
E128.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G25 .	273
E129.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G25 .	274
E130.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl ₃) de G25 .	274
E131.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G39 .	275
E132.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G39 .	275
E133.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G39 .	276
E134.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G39 .	276
E135.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G39 .	277
E136.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G39 .	277
E137.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G39 .	278
E138.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G39 .	278
E139.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G26 .	279
E140.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G26 .	279
E141.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G26 .	280
E142.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G26 .	280
E143.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G26 .	281
E144.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G26 .	281
E145.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G26 .	282
E146.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G28 .	282
E147.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl ₃) de G28 .	283
E148.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G28 .	283
E149.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G28 .	284
E150.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G28 .	284
E151.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G34 .	285
E152.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G34 .	285
E153.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	286
E154.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	286
E155.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	287
E156.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	287
E157.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	288
E158.	Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CD ₃ OD) de G34 .	288

E159.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G40 .	289
E160.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G40 .	289
E161.	Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de G41 .	290
E162.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G41 .	290
E163.	Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G41 .	291
E164.	Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de G45 .	291
E165.	Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl_3) de G45 .	292
E166.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G45 .	292
E167.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de G45 .	293
E168.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G45 .	293
E169.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G45 .	294
E170.	Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de G48 .	294
E171.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G48 .	295
E172.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G48 .	295
E173.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G48 .	296
E174.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G48 .	296
E175.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G48 .	297
E176.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G46 .	297
E177.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G46 .	298
E178.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de G46 .	298
E179.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G46 .	299
E180.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G46 .	299
E181.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G49 .	300
E182.	Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G49 .	300
E183.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G49 .	301
E184.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G49 .	301
E185.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G35 .	302
E186.	Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	302
E187.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	303
E188.	Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	303
E189.	Mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	304
E190.	Ampliação da região alifática do mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	304
E191.	Mapa de contorno gHSQC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	305
E192.	Mapa de contorno gHMBC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G35 .	305
E193.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G36 .	306
E194.	Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G36 .	306
E195.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G36 .	307
E196.	Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G36 .	307
E197.	Mapa de contorno gHSQC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G36 .	308
E198.	Mapa de contorno gHMBC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G36 .	308
E199.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G37 .	309
E200.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G37 .	309
E201.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G37 .	310
E202.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de G37 .	310

E203.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G37	311
E204.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G37	311
E205.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G42	312
E206.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G42	312
E207.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G42	313
E208.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G42	313
E209.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G42	314
E210.	Espectro de massas de alta resolução de G47 (HREIMS).	314
E211.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G47	315
E212.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G47	315
E213.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G47	316
E214.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G47	316
E215.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + gotas de CD ₃ OD) de G47	317
E216.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G43	317
E217.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G43	318
E218.	Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G43	318
E219.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de G43	319
E220.	Mapa de contorno gCOSY ¹ H- ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G43	319
E221.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G43	320
E222.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G43	320
E223.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G44	321
E224.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD 85:15) de G44	321
E225.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de G44	322
E226.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD 85:15) de G44	322
E227.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) de G44	323
E228.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD 85:15) de G44	323
E229.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃ + CD ₃ OD 85:15) de G44	324
E230.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G7	324
E231.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G7	325
E232.	Espectro de RMN de ¹ H (50 MHz, CDCl ₃) de G7	325
E233.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G8	326
E234.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G8	326
E235.	Espectro de RMN de ¹ H (50 MHz, CDCl ₃) de G8	327
E236.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G9	327
E237.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G9	328
E238.	Espectro de RMN de ¹ H (100 MHz, CDCl ₃) de G9	328
E239.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G11	329
E240.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G11	329
E241.	Espectro de RMN de ¹ H (50 MHz, CDCl ₃) de G11	330
E242.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G13	330
E243.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G13	331
E244.	Espectro de RMN de ¹ H (100 MHz, CDCl ₃) de G13	331
E245.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G1	332
E246.	Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de G1	332
E247.	Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) de G1	333
E248.	Espectro de massas de alta resolução de G2 (HREIMS).	333
E249.	Espectro de absorção na região do IV (KBr) de G2	334
E250.	Espectro de absorção na região do UV (CH ₃ OH) de G2	334
E251.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G2	335
E252.	Ampliação do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G2	335
E253.	Mapa de contorno gCOSY ¹ H- ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G2	336
E254.	Ampliação do mapa de contorno gCOSY ¹ H- ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de G2	336
E255.	Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G2	337

E256.	Ampliação do mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G2 .	337
E257.	Espectro de RMN de ¹³ C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl ₃) de G2 .	338
E258.	Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl ₃) de G2 .	338

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
μg	Micrograma
μL	Microlitro
μM	Micromolar
1D	Uma dimensão
2D	Duas dimensões
AcOEt	Acetato de etila
BCEH	Blepharophylla cerne hexânico
BCEM	Blepharophylla cerne metanólico
BCEMA	Blepharophylla cerne metanólico alcaloídico
BCEMN	Blepharophylla cerne metanólico neutro
BCH	Blepharophylla casca hexânico
BCM	Blepharophylla casca metanólico
BCMA	Blepharophylla casca metanólico alcaloídico
BCMN	Blepharophylla casca metanólico neutro
BFH	Blepharophylla folha hexânico
BFM	Blepharophylla folha metanólico
BFOE	Blepharophylla folha óleo essencial
CC	Coluna cromatográfica
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ OH	Metanol
CHCl ₃	Clorofórmio
CI	Concentração inibitória
CIM	Concentração mínima inibitória
cm ⁻¹	Centímetro recíproco
conc.	Concentrado
COSY	“Correlation Spectroscopy”
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
dddd	Duplo duplo duplo dubleto
dt	Duplo tripleto
EP	Éter de Petróleo
eV	Elétron volt
FCEH	Friesiana cerne hexânico
FCEM	Friesiana casca metanólico
FCEMA	Friesiana casca metanólico alcaloídico
FCEMN	Friesiana casca metanólico neutro
FCH	Friesiana casca hexânico
FCM	Friesiana casca metanólico
FCMA	Friesiana casca metanólico alcaloídico
FCMN	Friesiana casca metanólico neutro
FFH	Friesiana folha hexânico
FFM	Friesiana folha metanólico
FFMA	Friesiana folha metanólico alcaloídico

FFMN	Friesiana folha metanólico neutro
FFOE	Friesiana folha óleo essencial
g	Grama
h	Hora
HCEH	Hispidia cerne hexânico
HCEM	Hispidia cerne metanólico
HCH	Hispidia casca hexânico
HCl	Ácido clorídrico
HCM	Hispidia casca metanólico
HFH	Hispidia folha hexânico
HFM	Hispidia folha metanólico
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”
HREIMS	“High resolution electron impact mass spectrometry”
HRESIMS	“High resolution electron spray ionization mass spectrometry”
HSQC	“Heteronuclear Sigle Quantum Coherence”
Hz	Hertz
J	Constante de Acoplamento
L	litro
Lav.	Lavagem
m	multiplete
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	MegaHertz
mL	Mililitro
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de Amônio
nm	Nanômetro
NOE	“Nuclear Overhauser Effect”
° C	Graus Celsius
Pseudoax	Pseudoaxial
Pseudoeq	Pseudoequatorial
Recr.	Recristalização
Rfs	Fator de retenção
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
s	singleto
t	triplete
TCA	Tricloroacético
td	Triplo dubleto
TGI	“Total Growth Inhibition”
TMS	Tetrametilsilano
TSA	Toxicidade sobre <i>Artemia salina</i>

ABSTRACT

Guatterioopsis R.E. Fries (Annonaceae) is a small genus comprising five species, of which four occur in Brazil, mainly in the Amazonian region, and are commonly known as “envireiras”. Only one phytochemical study in this genus was previously conducted on the essential oils of leaves of *Guatterioopsis blepharophylla*, however no biological study was reported. Based on this information, the present work includes a phytochemical study and biological activities of three Amazonian species of *Guatterioopsis* (*Guatterioopsis blepharophylla*, *Guatterioopsis friesiana*, and *Guatterioopsis hispida*). The botanical material (bark, leaves, and stem) of the three species was submitted to extraction at room temperature using hexane and methanol as solvents, and later the extracts were tested in relation to the antimicrobial and *in vitro* antiproliferative (antitumor) activity, and toxicity against *Artemia salina* (TAS). The leaves were submitted to extraction of essential oils by hydrodistillation and tested for antimicrobial activity. For *G. hispida* only the study of essential oils and vegetable extracts and their biological activity was performed due to the small amount of material obtained.

From the phytochemical investigation of the bark hexane extract of *G. friesiana* a mixture of steroids (**G1**) of β -sitosterol (**G1A**) and stigmasterol (**G1B**), and five sesquiterpene lactones, guatteriolide (**G2**), **G3**, **G4**, **G5**, and **G6** (in structural determination) were isolated, while from the methanolic extract 23 compounds were isolated: two sesquiterpene lactones, **G3** and **G6**, and 21 alkaloids; 17 7,7-dimethylaporphines, 3-methoxy-demethoxyguadiscine (**G14**), demethoxyguadiscine (**G15**), 4-dehydroxyguatterioopsiscine (**G16**), 9-methoxy-4-dehydroxyguatterioopsiscine (**G17**), 3-methoxyguadiscine (**G18**), guadiscine (**G19**), 6,6a-dihydrodemethoxyguadiscine (**G20**), guatterioliscine (**G21**), guatterioopsiscine (**G22**), 6,6a-dihydroguatterioliscine (**G23**), 9-demethoxyguatterioliscine (**G24**), 9-hydroxy-4-dehydroxyguatterioopsiscine (**G27**), 3-methoxyguadiscidine (**G29**), guadiscidine (**G30**), tetrahydromelosmidine (**G31**), 3-hydroxymelosmidine (**G32**), and 6,6a-dehydro-3-hydroxy-tetrahydromelosmidine (**G33**), one 7-hydroxy-7-methylaporphine, 4-dehydroxy-7-demethyl-7-hydroxy-guatterioopsiscine (**G25**), and three oxoaporphines, lysicamine (**G26**), liriodenine (**G28**), and *N*-oxide-isomoschatoline (**G34**). From the stem hexane extract a mixture of steroids, **G1**, and one sesquiterpene lactone, **G2** were isolated, while from the methanolic extract six alkaloids were isolated: three 7,7-dimethylaporphines (**G15**, **G20**, and **G22**), one oxoaporphine (**G28**), and two protoberberines, corypalmine or discretinine (**G35**), and coreximine (**G36**). From the leaves hexane extract ten compounds were isolated: one mixture

of steroids, **G1**, three sesquiterpenes, γ -eudesmol (**G7**), α -eudesmol (**G8**), and β -eudesmol (**G9**), and six sesquiterpene lactones **G2**, **G3**, **G4**, **G5**, **G6**, and **G10** (in structural determination), while from the methanolic extract twelve alkaloids were isolated; three 7,7-dimethylaporphines, **G17**, **G22**, and 6,6a-dehydroguatteriopsiscine (**G38**), one 7-hydroxy-7-methylaporphine, 6,6a-dihydro-7-demethyl-7-hydroxy-9-demethoxyguatterioliscine (**G39**), four oxoaporphines, **G26**, **G28**, atherospermidine (**G40**), and lanuginosine (**G41**), and four protoberberines 13-hydroxy-2,3,9,10-tetramethoxyprotoberberine (**G37**), 3,13-dihydroxy-2,9,10-trimethoxyprotoberberine (**G42**), 7,8-dihydro-8-hydroxypalmatine (**G43**), and palmatine (**G44**). Among these isolated compounds, 22 (**G2**, **G14**, **G16**, **G17**, **G18**, **G19**, **G20**, **G21**, **G22**, **G23**, **G24**, **G25**, **G27**, **G29**, **G31**, **G32**, **G33**, **G34**, **G37**, **G38**, **G39**, and **G42**) were new natural products.

From the phytochemical investigation of the bark hexane extract of *G. blepharophylla* a mixture of steroids, **G1**, and three sesquiterpenes, caryophyllene oxide (**G11**), **G12** (in structural determination), and spathulenol (**G13**) were isolated, while from the methanolic extract seven alkaloids were isolated: five oxoaporphines, **G26**, **G28**, **G34**, *O*-methylmoschatoline (**G45**) and subsessiline (**G48**), one aporphine *sensu stricto*, nornuciferine (**G46**), and one protoberberine, isocoreximine (**G47**). From the stem methanolic extract four alkaloids were isolated: two oxoaporphines **G26** and **G28**, a mixture of aporphines *sensu stricto* (**G49**), anonaine (**G46** or **G49A**), and nornuciferine (**G49B**), and one protoberberine (**G47**). Among these compounds only **G34** is a new natural product.

The isolated compounds, mainly the aporphinoids and protoberberine alkaloids were fundamental to the chemotaxonomic contribution among *Guatteriopsis* and *Guatteria*, since recent works suggest the union of these genera.

From the study of the essential oils of these three species of *Guatteriopsis* it was possible the identification of 54 compounds, some present in more than one species, being 33 from *G. blepharophylla*, eight from *G. friesiana*, and 20 from *G. hispida*. The main constituent found in the essential oil of *G. blepharophylla* was caryophyllene oxide (69.25%). *G. friesiana* possesses predominantly β -eudesmol (51.60%), γ -eudesmol (23.70%), and α -eudesmol (14.56%), while *G. hispida*, β -pinene (38.18%), α -pinene (30.77%), and (*E*)-caryophyllene (20.59%). The main compounds of *G. blepharophylla* (caryophyllene oxide **G11**) and *G. friesiana* (β -, γ - and α -eudesmol, **G9**, **G7** and **G8**, respectively) were also isolated and identified by spectroscopy methods.

The isolated compounds showed significant biological activities with special attention to *in vitro* antiproliferative assay, for example, **G28**, **G15**, **G32**, **G20**, **G21**, and **G34** with TGI (Total Growth Inhibition) values of 10.36, 11.01, 13.51, 21.50, 21.55, and 22.71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against human breast tumor cell line – MCF-7 (as control: doxorubicin, TGI = 25.00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). **G15**, **G20**, and **G21** presented strong activity against human colon tumor cell line – HT-29 with TGI values of 24.27, 27.28, and 23.29 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (control, TGI > 25.00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), respectively. **G7** and **G8** demonstrated significant activity against MCF-7 (TGI = 22.63 and 20.10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), human breast cell line expressing multiple drug resistance phenotype – NCI-ADR/RES (TGI = 2.51 e 2.01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), and leukemia (both TGI < 0.25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), below values of TGI of the positive control (25.00, 8.04 e 0.90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively). For the antimicrobial activity the best results were observed for **G7** and **G8** with MIC values of 300.0 and 200.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against *Pseudomonas aeruginosa*, respectively, **G34** and **G43** with MIC values of 15.6 and 50.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against *Candida albicans*, and **G28** with MIC value of 10.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against *Rhodococcus equi*.

KEY-WORDS: *Guatteriaopsis blepharophylla*; *G. friesiana*; *G. hispida*; alkaloids; terpenoids; essential oil; antimicrobial activity; antiproliferative activity; toxicity against *Artemia salina*.

RESUMO

Guatteriaopsis R.E. Fries (Annonaceae) é um pequeno gênero constituído de cinco espécies, das quais quatro são brasileiras, conhecidas popularmente como envireiras, ocorrendo principalmente na Amazônia brasileira. Apenas um estudo fitoquímico nesse gênero foi encontrado, referente aos óleos essenciais das folhas de *Guatteriaopsis blepharophylla*, porém nenhum estudo biológico foi relatado. Baseado nesta informação o presente trabalho descreve o estudo fitoquímico e atividades biológicas de três espécies amazônicas de *Guatteriaopsis* (*Guatteriaopsis blepharophylla*, *Guatteriaopsis friesiana* e *Guatteriaopsis hispida*). O material botânico (casca, folhas e cerne) das três espécies foi submetido à extração à temperatura ambiente utilizando como solventes hexano e metanol, e posteriormente os extratos foram testados em relação às atividades antimicrobiana e antiproliferativa *in vitro* (antitumoral), e toxicidade contra *Artemia salina* (TAS). As folhas foram submetidas à extração dos óleos essenciais por hidrodestilação e teste de atividade

antimicrobiana. Para *G. hispida* foi realizado apenas o estudo dos óleos essenciais e extratos vegetais, e suas atividades biológicas devido ao pouco material obtido.

Da investigação fitoquímica do extrato hexânico das cascas de *G. friesiana* foram isolados uma mistura esteroidal (**G1**) de β -sitosterol (**G1A**) e estigmasterol (**G1B**) e cinco lactonas sesquiterpênicas, guatteriolida (**G2**), **G3**, **G4**, **G5** e **G6** (em determinação estrutural), enquanto que do extrato metanólico foram isolados 23 compostos: duas lactonas sesquiterpênicas, **G3** e **G6** e 21 alcalóides: 17 7,7-dimetilaporfinos, 3-metoxidemetoxiguadiscina (**G14**), demetoxiguadiscina (**G15**), 4-desidroxiguatteriopsiscina (**G16**), 9-metoxi-4-desidroxiguatteriopsiscina (**G17**), 3-metoxiguadiscina (**G18**), guadiscina (**G19**), 6,6a-diidrodemetoxiguadiscina (**G20**), guatterioliscina (**G21**), guatteriopsiscina (**G22**), 6,6a-diidroguatterioliscina (**G23**), 9-demetoxiguatterioliscina (**G24**), 9-hidroxi-4-desidroxiguatteriopsiscina (**G27**), 3-metoxiguadiscidina (**G29**), guadiscidina (**G30**), tetraidromelosmidina (**G31**), 3-hidroxielosmidina (**G32**) e 6,6a-desidro-3-hidroxi-tetraidromelosmidina (**G33**), um 7-hidroxi-7-metilaporfino, 4-desidroxi-7-demetil-7-hidroxi-guatteriopsiscina (**G25**) e três oxoaporfinos, lysicamina (**G26**), liriodenina (**G28**) e *N*-óxido-isomoschatolina (**G34**). Do extrato hexânico do cerne foi isolado uma mistura esteroidal, **G1** e uma lactona sesquiterpênica, **G2**, enquanto que do extrato metanólico foram isolados seis alcalóides: três 7,7-dimetilaporfinos **G15**, **G20** e **G22**, um oxoaporfino **G28** e dois protoberberinos, corypalmina ou discretinina (**G35**), e coreximina (**G36**). Do extrato hexânico das folhas foram isolados dez compostos: uma mistura esteroidal, **G1**, três sesquiterpenos, γ -eudesmol (**G7**), α -eudesmol (**G8**) e β -eudesmol (**G9**) e seis lactonas sesquiterpênicas **G2**, **G3**, **G4**, **G5**, **G6** e **G10** (em determinação estrutural), enquanto que do extrato metanólico foram isolados doze alcalóides: três 7,7-dimetilaporfinos, **G17**, **G22** e 6,6a-desidroxiguatteriopsiscina (**G38**), um 7-hidroxi-7-metilaporfino, 6,6a-diidro-7-demetil-7-hidroxi-9-demetoxiguatterioliscina (**G39**), quatro oxoaporfinos, **G26**, **G28**, atherospermidina (**G40**) e lanuginosina (**G41**) e quatro protoberberinos, 13-hidroxi-2,3,9,10-tetrametoxiprotoberberino (**G37**), 3,13-diidroxi-2,9,10-trimetoxiprotoberberino (**G42**), 7,8-diidro-8-hidroxipalmatina (**G43**) e palmatina (**G44**). Dentre estes compostos isolados, 22 (**G2**, **G14**, **G16**, **G17**, **G18**, **G19**, **G20**, **G21**, **G22**, **G23**, **G24**, **G25**, **G27**, **G29**, **G31**, **G32**, **G33**, **G34**, **G37**, **G38**, **39** e **G42**) são produtos naturais inéditos.

Da investigação fitoquímica das cascas do extrato hexânico de *G. blepharophylla* foram isolados uma mistura esteroidal, **G1** e três sesquiterpenos, óxido de cariofileno (**G11**), **G12** (em determinação estrutural) e espatulenol (**G13**), enquanto que do extrato metanólico foram isolados sete alcalóides: cinco oxoaporfinos, **G26**, **G28**, **G34**, *O*-metilmoschatolina (**G45**) e

subsessilina (**G48**), um aporfino *sensu stricto*, nornuciferina (**G46**) e um protoberberino, isocoreximina (**G47**). Do extrato metanólico do cerne foram isolados quatro alcalóides: dois oxoaporfinos **G26** e **G28**, uma mistura de aporfinos *sensu stricto* (**G49**), anonaina (**G49A**) e nornuciferina (**G46** ou **G49B**), e um protoberberino, **G47**. Dentre estes compostos apenas **G34** é um produto natural inédito.

Os compostos isolados, principalmente os alcalóides aporfinóides e protoberberínicos, foram fundamentais para as contribuições quimiotaxonômicas entre os gêneros *Guatteriopsis* e *Guatteria*, uma vez que recentes trabalhos sugerem a união desses dois gêneros.

Do estudo dos óleos essenciais das três espécies foi possível a identificação de 54 compostos, alguns comuns entre si, sendo 33 de *G. blepharophylla*, 8 de *G. friesiana* e 20 de *G. hispida*. O principal constituinte encontrado no óleo essencial de *G. blepharophylla* foi o óxido de cariofileno (69,25%). *G. friesiana* possui predominantemente β -eudesmol (51,60%), γ -eudesmol (23,70%) e α -eudesmol (14,56%), enquanto que para *G. hispida*, β -pineno (38,18%), α -pineno (30,77%) e (*E*)-cariofileno (20,59%). Os principais constituintes de *G. blepharophylla* (óxido de cariofileno **G11**) e de *G. friesiana* (γ -, α -, β -eudesmol **G7**, **G8** e **G9**, respectivamente) também foram isolados e identificados espectroscopicamente.

Os compostos isolados apresentaram significantes atividades biológicas com especial atenção para o ensaio antiproliferativo *in vitro*, como por exemplo, **G28**, **G15**, **G32**, **G20**, **G21** e **G34**, com valores de TGI (“Total Growth Inhibition”) de 10,36, 11,01, 13,51, 21,50, 21,55 e 22,71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra linhagens tumorais humanas de mama – MCF-7 (como controle: doxorrubicina, TGI = 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). **G15**, **G20** e **G21** apresentaram forte atividade contra linhagens tumorais humanas de cólon – HT-29 com valores de TGI de 24,27, 27,28 e 23,29 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (controle, TGI > 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), respectivamente. **G7** e **G8** demonstraram significativa atividade contra linhagens de MCF-7 (TGI = 22,63 e 20,10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), linhagens tumorais humanas de mama com fenótipo de resistência a múltiplas drogas – NCI-ADR/RES (TGI = 2,51 e 2,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e leucemia – K-562 (ambos TGI < 0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), abaixo dos valores de TGI do controle positivo (25,00, 8,04 e 0,90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente). Para o ensaio antimicrobiano os melhores resultados foram observados para **G7** e **G8** com CIMs de 300,0 e 200,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente, **G34** e **G43** com CIMs de 15,6 e 50,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente contra *Candida albicans*, e **G28** com CIM de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *Rhodococcus equi*.

PALAVRAS-CHAVE: *Guatteriaopsis blepharophylla*; *G. friesiana*; *G. hispida*; alcalóides; terpenóides; óleos essenciais; atividade antimicrobiana; atividade antiproliferativa; toxicidade contra *Artemia salina*.

1. INTRODUÇÃO

As espécies vegetais fazem parte da vida do homem desde seus primórdios, como fonte de alimentos, de materiais para o vestuário, habitação, utilidades domésticas, produção de meios de transporte, como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas, e como meio restaurador da saúde. Sua importância, medida pela intensidade de seu uso, tem assumido, nos diversos estágios de desenvolvimento da sociedade, altos e baixos. Atualmente representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de se constituírem em fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo ser humano (SCHENKEL *et al.*, 2003).

Essas espécies produzem uma vasta e diversa variedade de compostos orgânicos, a grande maioria dos quais não aparenta participar diretamente no processo de crescimento e desenvolvimento. Esses compostos, chamados de metabólitos secundários ou produtos naturais, geralmente estão distribuídos diferentemente entre grupos taxonômicos limitados dentro do reino das plantas. Suas funções, muitas das quais permanecem desconhecidas, vem sendo elucidadas com uma frequência crescente. Os metabólitos primários, em contraste, assim como os fitoesteróis, lipídeos, nucleotídeos, aminoácidos, e ácidos orgânicos são encontrados em todas as plantas e exercem funções metabólicas que são essenciais e usualmente evidentes (CROTEAU *et al.*, 2000).

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes com propriedades biológicas interessantes. Atualmente, entretanto, sabe-se que muitas dessas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. De fato, já foram reconhecidas como funções de alguns desses metabólitos, a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra os raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (WINK, 1990), bem como sua participação em alelopatias (HARBORNE, 1998).

Por outro lado, a intensa exploração dos ecossistemas tropicais tais como as Florestas Amazônica e Tropical Atlântica nas últimas décadas, tem sido motivo de constante preocupação da humanidade, em especial a Floresta Tropical Atlântica, da qual atualmente restam apenas 10% da cobertura original (IBGE, 2008). Já para Floresta Amazônica, levantamentos realizados revelaram que cerca de 15% do total já foram desmatados (IBGE, 2008), sendo estes realizados principalmente para a formação de pastos e áreas agrícolas, decorrendo ainda da extração predatória de madeira. Apesar da diminuição do desmatamento

de acordo com as estatísticas do IBGE, a situação ainda é muito preocupante e medidas mais enérgicas têm que ser tomadas.

Com mais de 6 milhões de Km², a Amazônia é a maior e mais diversa região de Floresta Tropical, com matrizes de formas de vida animal, vegetal e microrganismos vitais para o funcionamento da biosfera (DIRZO & RAVEN, 2003). Compilações recentes indicam pelo menos 40.000 espécies de plantas, 427 de mamíferos, 1.294 de aves, 378 de répteis, 427 de anfíbios e aproximadamente 3.000 espécies de peixes na região Amazônica (RYLANDS *et al.*, 2002). A maioria das espécies não se distribui homoganeamente pela Amazônia, mas ocorre em regiões delimitadas, comumente designadas como áreas de endemismo.

No território brasileiro, a área de floresta compreende 60% da Floresta Amazônica e o Brasil é o único país que possui áreas representativas de todas as regiões de endemismo (DA SILVA *et al.*, 2005).

Muitas áreas da flora Amazônica nunca foram exploradas botanicamente e novas espécies ainda deverão ser descobertas. Até hoje, apenas cerca de 20 espécies são mundialmente conhecidas e utilizadas pelas indústrias madeireiras, e poucas como frutíferas ou por suas propriedades medicinais. Os caboclos e ameríndios, que moram dentro ou perto da floresta, conhecem muito bem as espécies úteis, mas esse conhecimento é em geral restrito e pouco divulgado (RIBEIRO *et al.*, 1999).

Sem dúvida, muitas plantas nativas podem permanecer desconhecidas, e talvez, continuem para sempre, com a diminuição dos ecossistemas devido à falta de uma política de controle do uso dos bens naturais. A única possibilidade de aproveitar melhor esses recursos é através de um maior conhecimento das florestas tropicais em especial a Floresta Amazônica, e o único meio para conseguir isso é pela identificação sustentável das espécies, o que trarão subsídios para a exploração sustentável de seu ecossistema, e por consequência a conservação deste (DOS REIS, 1996; RIBEIRO *et al.*, 1999). Nesse contexto, as plantas da flora nativa principalmente as espécies utilizadas na medicina popular, ao permitir a descoberta de novas espécies com potencial utilização pelo homem, representam alternativas de uso múltiplo para os ecossistemas florestais (DOS REIS, 1996).

Em meio a esta grande diversidade Amazônica, algumas espécies pertencentes à família Annonaceae destacam-se pelo crescimento considerável de sua importância econômica nas últimas décadas, devido ao grande número de espécies frutíferas conhecidas popularmente e mundialmente, assim como o uso de inúmeras espécies na medicina popular (TOLMIE, 1975 BRAGA, 1976; GEMTCHÚJNICOV, 1976; CORRÊA, 1984), algumas das quais apresentando uma ampla quantidade de metabólitos secundários com atividades biológicas comprovadas, tais

como antimicrobiana (COSTA *et al.*, 2008), antiparasitária (AKENDENGUE *et al.*, 2002; BOYOM *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2006; OSORIO *et al.*, 2007), anti-helmíntica (ALAWA *et al.*, 2003), antitumoral (ALALI *et al.*, 1999) e agregação antiplaquetária (CHANG *et al.*, 1998; YLANG *et al.*, 2002).

Apesar da importância dos membros dessa família na medicina popular, o número de espécies que têm sido investigadas é extremamente pequeno. Dentre as mais de 2500 espécies catalogadas, um pouco mais de 250, cerca de 10%, têm sido investigadas, mostrando que muitas espécies ainda necessitam ser conhecidas e estudadas.

Entre os gêneros poucos conhecidos e estudados encontra-se *Guatteriaopsis*, um gênero pequeno com cinco espécies, das quais quatro são brasileiras. Pesquisas realizadas no “*Chemical Abstracts*” revelaram apenas um estudo fitoquímico nesse gênero envolvendo o estudo dos óleos essenciais das folhas de *Guatteriaopsis blepharophylla* (MAIA *et al.*, 2005). Os estudos fitoquímicos e biológicos envolvendo as espécies pertencentes a esta família se concentram nos gêneros *Annona*, *Goniathalamus*, *Monodora*, *Rollinia*, *Uvaria* e *Xylopia*, devido ao grande número de espécies destes gêneros utilizados na medicina popular. Em virtude desse fato, alguns gêneros que não apresentam nenhuma indicação popular ou nenhum relato incluindo *Guatteriaopsis*, permanecem desconhecidos e poderão continuar desconhecidos com a diminuição das florestas tropicais.

Visando a procura de plantas brasileiras não estudadas e pouco conhecidas, o presente trabalho teve como ênfase o estudo químico biomonitorado de três espécies de *Guatteriaopsis* direcionado para o isolamento e identificação dos constituintes químicos presentes nos extratos bioativos, bem como nos óleos essenciais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA ANNONACEAE

Annonaceae representa uma das maiores famílias da ordem Magnoliales, compreendendo cerca de 2500 espécies distribuídas em 135 gêneros (CHATROU *et al.*, 2004). Possui distribuição pantropical (FIGURA 1) ocorrendo predominantemente como árvores e arvoretas, e raramente como lianas. Na Região Neotropical são encontrados 40 gêneros e cerca de 900 espécies (CHATROU *et al.*, 2004), e no Brasil são relatados 26 gêneros sendo sete endêmicos e cerca de 260 espécies, ocorrendo a maior parte em florestas, com alguns representantes em áreas abertas (MAAS *et al.*, 2001, 2007). Entre os gêneros descritos no Brasil os mais representativos da flora brasileira são: *Annona*, *Xylopia*, *Rollinia*, *Guatteria* e *Guatteriaopsis*.

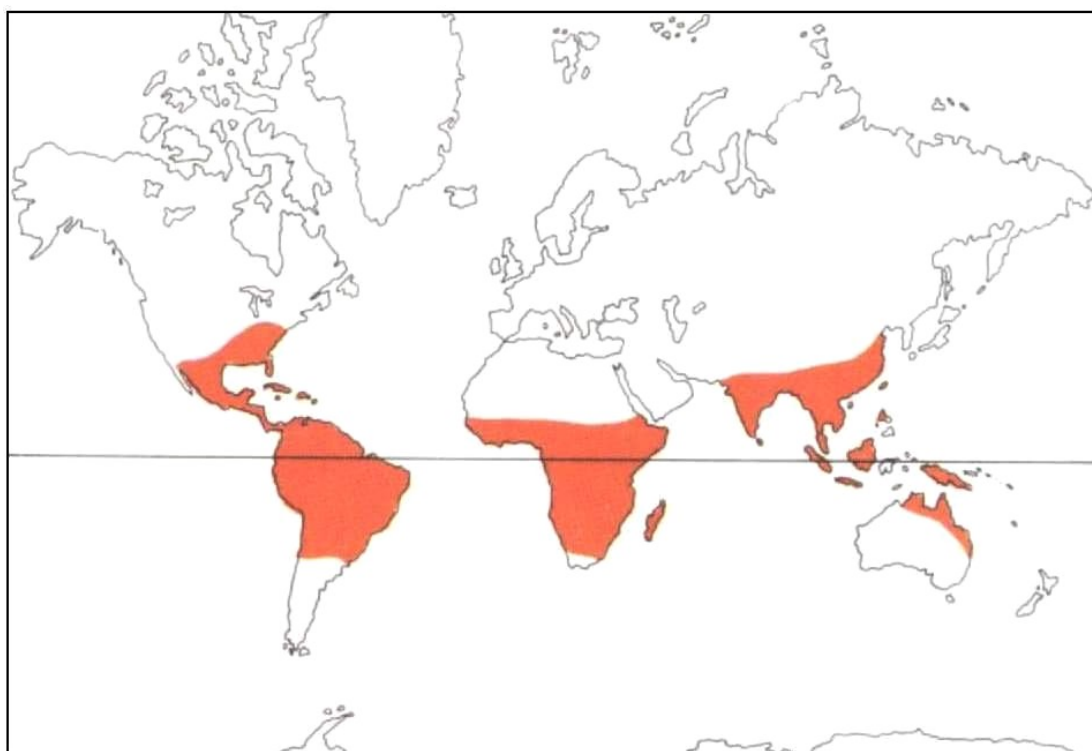


FIGURA 1. Distribuição geográfica da família Annonaceae.

FONTE: HEYWOOD, 1978.

2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E USOS POPULARES

O principal valor econômico desta família é o fornecimento de frutos comestíveis (FIGURA 2), que são muito apreciados, especialmente espécies do gênero *Annona*, tais como:

A. cherimolia (cherimólia), *A. crassiflora* (marolo), *A. squamosa* (ata, fruta do conde ou pinha), *A. montana* (graviola da montanha), *A. muricata* (guanabana, graviola) e *A. reticulata* (condessa); e *Rollinia*, tais como: *R. mucosa* (biribá), *R. sylvatica* (araticum) e *R. deliciosa* (biribá) (KESSLER, 1993). Outras espécies com frutos poucos conhecidos de valor alimentício encontram-se nos gêneros *Artabotrys*, *Asimina*, *Duguetia*, *Polyalthia*, *Raimondia* e *Uvaria* (KESSLER, 1993; SÁNCHEZ, 1997; MURILO & RESTREPO, 2000).

Na região amazônica, as anonáceas são conhecidas como “*cargueros*”, pois as cascas fortes são empregadas como suporte de cargas. Algumas espécies como *Bocageopsis* spp., *Fusae longifolia*, *Guatteria megalophylla*, *G. stipitata*, *Oxandra polyantha*, *O. lanceolata*, *Xylopia aethiopia* e *X. villosa* são de grande importância econômica em madeireiras (KESSLER, 1993; SÁNCHEZ, 1997; MURILO & RESTREPO, 2000). Outras se destacam pelo uso dos óleos das sementes para a produção de óleos comestíveis e sabão, e pelo emprego da madeira para produção de álcool e papel (LEBOEUF *et al.*, 1982).

Na Ásia e África as flores de *Cananga odorata* e *Artabotrys odoratissima* são usadas na fabricação de perfumes (óleo de “ylang-ylang”) (KESSLER, 1993). No México, *Cymbopetalum penduliflorus*, é usada como um tempero para essência de chocolate. Na Etiópia e América do Sul espécies de *Xylopia* spp. são usadas como um substituto de pimenta (“peper”) e no oeste da África, as sementes de *Monodora myristica* são utilizadas como um substituto de noz-moscada (KESSLER, 1993).

A família destaca-se ainda pelo amplo número de espécies que são utilizadas na medicina tradicional. Na Amazônia foram identificados o uso freqüente de espécies distribuídas nos gêneros *Annona*, *Xylopia*, *Guatteria* e *Rollinia* (TABELA 1). Algumas utilizações empíricas do gênero *Unonopsis* foram descritas por SCHULTES (1993), que menciona o uso de plantas desse gênero pelos índios da Floresta Amazônica no tratamento de demência senil, bem como utilização como veneno para ponta de setas.

Na TABELA 1 são apresentados alguns exemplos de espécies dessa família usadas na medicina popular, algumas das quais com atividades biológicas comprovadas.



Annona cherimola
(cherimólia, cherimola)



Annona squamosa
(ata, fruta do conde, pinha)



Annona reticulata
(condessa)



Annona montana
(graviola da montanha)



Annona muricata
(graviola)



Annona crassiflora
(marolo)



Artabotrys uncinatus



Duguetia lanceolata
(pindaíba)



Asimina triloba
(pawpaw)



Rollinia mucosa
(biribá)



Rollinia silvatica
(araticum)



Rollinia deliciosa
(biribá)

FIGURA 2. Imagens de algumas espécies frutíferas de Annonaceae.

FONTE: a,b,c,d,e,j,l,m <http://picasaweb.google.com/Amezzomo2002/Fruits11>;

f <http://picasaweb.google.com/evandoflopes/Frutos>;

h <http://www.dierbergertropicais.com.br/luisbacher/albuns/frutiferas/index.htm>;

g,i <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/annon.htm>.

TABELA 1. Usos populares e atividades farmacológicas comprovadas de algumas espécies da família Annonaceae

Espécie	Uso Popular	Atividade Comprovada
<i>Annona cherimolia</i>	Tratamento de doença de pele (CHEN <i>et al.</i> , 2001).	Antitumoral <i>in vitro</i> (ALALI <i>et al.</i> , 1999) e antimicrobiana <i>in vitro</i> (RUPPRECHT <i>et al.</i> , 1990).
<i>Annona diversifolia</i>	As folhas apresentam propriedades antiinflamatórias e analgésicas (GONZÁLEZ-TRUJANO <i>et al.</i> , 2001).	Anticonvulsiva (GONZÁLEZ-TRUJANO <i>et al.</i> , 2001).
<i>Annona foetida</i>	As folhas e as cascas usadas externamente são antirreumáticas; o seu decocto é útil nas febres intermitentes; os frutos verdes têm emprego na cura de úlceras crônicas (CORRÊA, 1984).	Leishmanicida (COSTA <i>et al.</i> , 2006).
<i>Annona montana</i>	A infusão das folhas é usada para o tratamento da influenza e insônia (MOOTOO <i>et al.</i> , 2000).	Antitumoral <i>in vitro</i> (Wu <i>et al.</i> , 1993).
<i>Annona muricata</i>	A infusão das sementes pulverizadas é usada nas disenterias (BRAGA, 1976); as folhas apresentam propriedades inseticida (TOLMIE, 1975); os frutos verdes e as folhas ainda fornecem um óleo que misturado com óleo de oliva é usado em fricções contra neuralgias e reumatismo (GEMTCHÚJNICOV, 1976).	Antitumoral <i>in vitro</i> (ALALI <i>et al.</i> , 1999) e antiprotozoário <i>in vitro</i> (JARAMILLO <i>et al.</i> , 2001; OSORIO <i>et al.</i> , 2007).
<i>Annona purpurea</i>	O suco das frutas é usado com um remédio para febres, resfriados e icterícias; a decoção das cascas é prescrita em casos de disenteria e edema; as sementes pulverizadas são relatadas como inseticidas (CHANG <i>et al.</i> , 1998, 2000).	Inseticida, agregação antiplaquetária <i>in vivo</i> (CHANG <i>et al.</i> , 1998) e atividade antitumoral <i>in vitro</i> (ALALI <i>et al.</i> , 1999)
<i>Annona reticulada</i>	As sementes secas e reduzidas a pó possuem propriedades febrífugas e antidiarréicas (BRAGA, 1976).	Antimicrobiana e antitumoral <i>in vitro</i> (RUPPRECHT <i>et al.</i> , 1990; ALALI <i>et al.</i> , 1999).
<i>Annona spinescens</i>	As sementes reduzidas a pó combatem a ptíriase infantil, polvilhando-se as partes afetadas (BRAGA, 1976; CORRÊA, 1984).	Leishmanicida e tripanomicida <i>in vitro</i> (QUEIROZ <i>et al.</i> , 1996), e antitumoral <i>in vitro</i> (ALALI <i>et al.</i> , 1999).
<i>Annona squamosa</i>	As folhas em infusão são estomacais e contusas empregadas em sinapismos, nas dores de cabeça e nevralgias; as sementes reduzidas a pó são inseticidas (BRAGA, 1976); quando pulverizadas, as folhas são empregadas no tratamento de úlceras e feridas, e as cascas fornecem um tônico contra diarreia (YLANG <i>et al.</i> , 2002).	Anti HIV <i>in vitro</i> (WU <i>et al.</i> , 1996), agregação antiplaquetária <i>in vivo</i> (YLANG <i>et al.</i> , 2002), larvicida (SAXENA <i>et al.</i> , 1993), antitumoral <i>in vitro</i> (ALALI <i>et al.</i> , 1999), antimalarial <i>in vitro</i> e pesticida (RUPPRECHT <i>et al.</i> , 1990), e antidiabética <i>in vivo</i> (SHIRWAIKAR <i>et al.</i> , 2004).
<i>Annona salzmanii</i>	É utilizada para o tratamento de várias doenças, tais como: verminoses, disenterias, úlceras e condições inflamatórias (PAULO <i>et al.</i> , 1992).	Antimicrobiana <i>in vitro</i> (PAULO <i>et al.</i> , 1992).
<i>Annona senegalensis</i>	A casca da raiz é usada no tratamento de câncer; a casca do caule para matar lombrigas intestinais; e as sementes são usadas no controle de piolhos (FATOPE <i>et al.</i> , 1996); as folhas e as cascas ainda são usadas como um antiarréico; e as raízes e as folhas também são aplicadas em condições respiratórias (SAHPAZ <i>et al.</i> , 1994).	Antitumoral <i>in vitro</i> e pesticida (FATOPE <i>et al.</i> , 1996), anti-helmíntica (ALAWA <i>et al.</i> , 2003), leishmanicida e tripanomicida <i>in vitro</i> (SAHPAZ <i>et al.</i> , 1994).

TABELA 1. Usos populares e atividades farmacológicas comprovadas de algumas espécies da família Annonaceae (cont.)

Espécie	Uso Popular	Atividade Comprovada
<i>Artabotrys hexapetalus</i>	As raízes e os frutos são usados no tratamento da malária e escrofula (LI <i>et al.</i> , 1997).	Antimalárica e antitumoral <i>in vitro</i> (LI <i>et al.</i> , 1997).
<i>Goniothalamus velutinus</i>	As raízes em decocção são usadas para dores de cabeça e casos de envenenamento; as folhas são usadas com repelente de mosquitos (OMAR <i>et al.</i> , 1992).	Antibacteriana e antitumoral <i>in vitro</i> (OMAR <i>et al.</i> , 1992).
<i>Guatteria boliviana</i>	Diversas partes da planta apresentam propriedades febrífugas e vermífugas (MAHIOU <i>et al.</i> , 2000).	Leishmanicida <i>in vitro</i> (MAHIOU <i>et al.</i> , 2000).
<i>Guatteria cardoniana</i>	Usada como repelente de inseto (Paredes <i>et al.</i> , 2001).	Antiviral (PAREDES <i>et al.</i> , 2001).
<i>Hexalobus crispiflorus</i>	A decocção das cascas é usada como um purgativo e emética (BOYOM <i>et al.</i> , 2003).	Antimalárica <i>in vitro</i> (BOYOM <i>et al.</i> , 2003).
<i>Pachypodanthium confine</i>	A decocção ou maceração das cascas é empregada contra piolho (BOYOM <i>et al.</i> , 2003).	Antimalárica <i>in vitro</i> (BOYOM <i>et al.</i> , 2003).
<i>Rollinia mucosa</i>	As sementes reduzidas a pó são empregadas contra enterocolite e são inseticidas; o fruto é relatado como bebida analéptica e antiescorbútica (TOLMIE, 1975; CORRÊA, 1984). Várias partes ainda são usadas no tratamento de tumores (KUO <i>et al.</i> , 2001).	Agregação antiplaquetária <i>in vivo</i> , atividade antimicrobiana e antifúngica (KUO <i>et al.</i> , 2001), e antitumoral (RUPPRECHT <i>et al.</i> , 1990; ALALI <i>et al.</i> , 1999).
<i>Uvaria dependens</i>	Diversas partes da planta possuem propriedades antiparasitárias (NKUNYA <i>et al.</i> , 1993).	Antimalárica <i>in vitro</i> (NKUNYA <i>et al.</i> , 1993).
<i>U. klaineana</i>	Diversas partes da planta possuem propriedades antiparasitárias (AKENDENGUE <i>et al.</i> , 2002).	Antileishmania e tripanomicida <i>in vitro</i> (AKENDENGUE <i>et al.</i> , 2002).
<i>Xylopia aromatica</i>	Os frutos colhidos não inteiramente maduros são usados como substituto de pimenta malagueta e são relatados como vermífugos e tônicos para o estômago e intestino (GEMTCHÚJNICOV, 1976).	Antiprotozoário (OSORIO <i>et al.</i> , 2007).
<i>Xylopia aethiopica</i>	Utilizada para dores no estômago, bronquite e disenterias (BOYOM <i>et al.</i> , 2003); o extrato das cascas é usado como unguento para feridas; as sementes pulverizadas e esfregadas na testa curam dor de cabeça e neuralgia; a decocção dos frutos é usada como uma loção para feridas e tumores (IRVINE, 1961).	Antimalárica <i>in vitro</i> (BOYOM <i>et al.</i> , 2003).

2.3. FITOQUÍMICA DA FAMÍLIA ANNONACEAE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

A família Annonaceae caracteriza-se particularmente pela produção de alcalóides do tipo isoquinolínico, embora outras classes de alcalóides têm sido encontradas. Quase todos os alcalóides de Annonaceae possuem uma estrutura derivada do esqueleto isoquinolínico, tais como: isoquinolinas simples (1); benziltetraidroisoquinolinas (2); bisbenziloisoquinolinas (3) e bisbenziltetraidroisoquinolinas (4); protoberberinas (5) e tetraidroprotoberberinas (6);

aporfínóides *sensu lato*, incluindo os aporfínicos (7 e 8), oxoaporfínicos (9), fenantrenos (10) e proaporfínicos (11); e alcalóides “miscellaneous” do tipo isoquinolino (12a, 12b e 12c) (FIGURA 3).

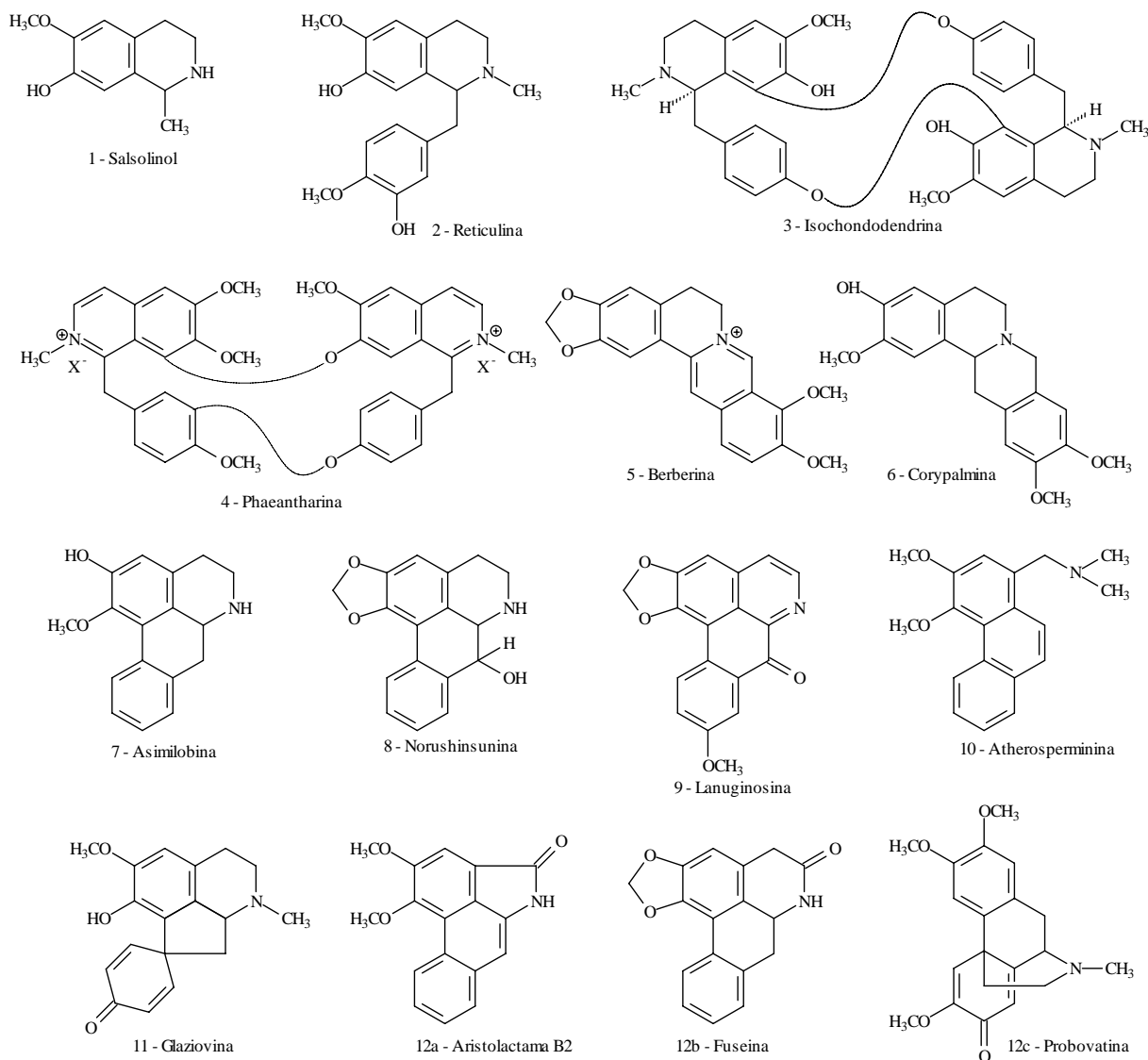


FIGURA 3. Exemplos de alcalóides derivados do esqueleto isoquinolínico.

Embora os alcalóides sejam seus principais produtos biossintéticos, outras classes de substâncias podem ser encontradas nesta família de acordo com a revisão de LEBOUÉF *et al.* (1982), tais como: esteróides (13a e 13b), flavonóides (14), amidas (15), lactonas (16) (AKENDENGUE *et al.*, 2002), cetonas (17) (GONZÁLEZ-TRUJANO *et al.*, 2001), compostos aromáticos (18), monoterpenos (19), sesquiterpenos (20), diterpenos (21) e triterpenos (22). Atualmente, estudos químicos realizados em espécies de Annonaceae revelaram a presença de

uma nova classe de substâncias, as chamadas acetogeninas de anonáceas (23a e 23b) (RUPPRECHT *et al.*, 1990; ALALI *et al.*, 1999) (FIGURA 4).

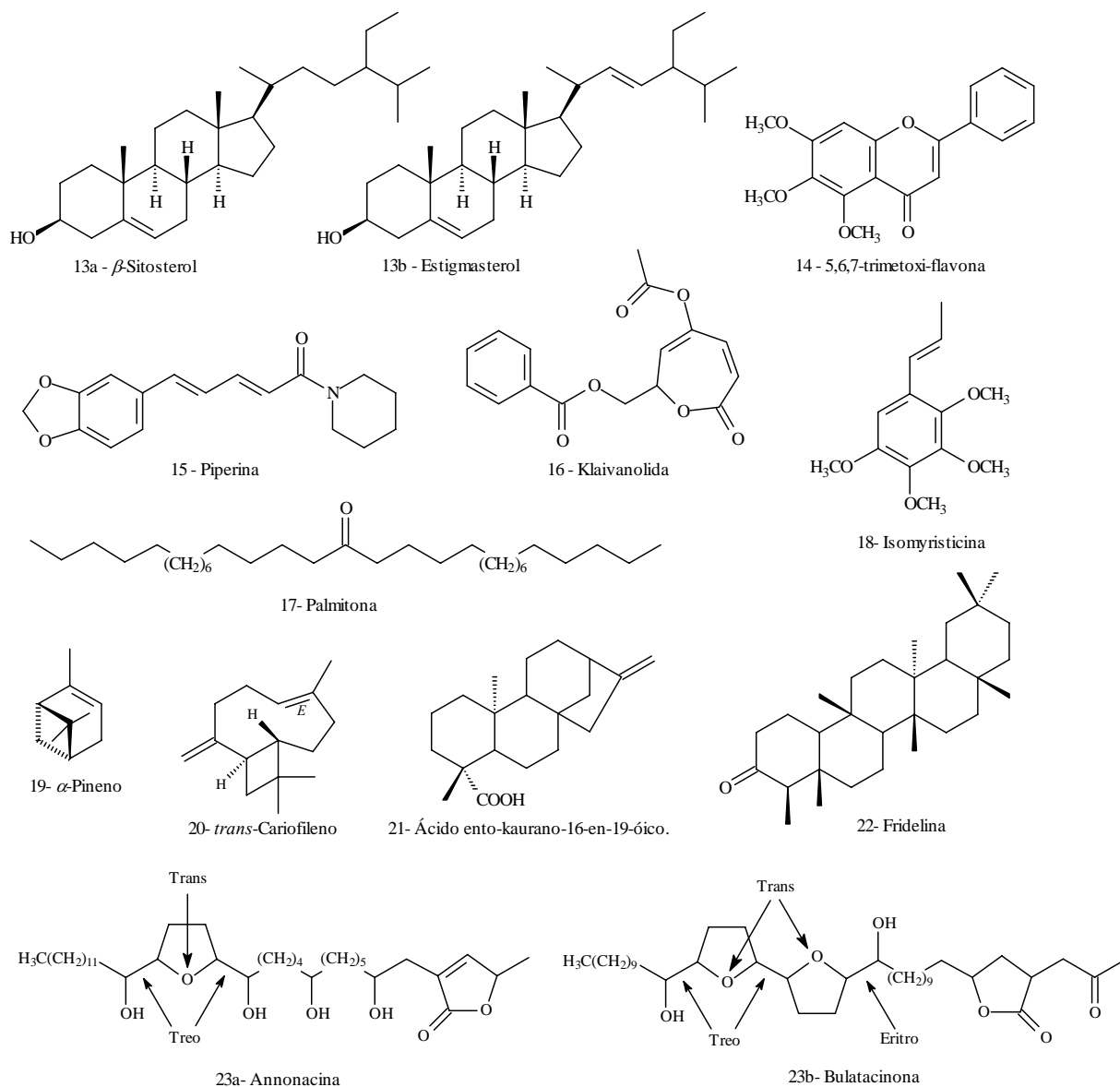


FIGURA 4. Exemplos de compostos não alcaloídicos isolados de espécies de Annonaceae.

Também são encontrados em espécies de Annonaceae, carboidratos, lipídeos, amidas aminoácidos e proteínas. Um grande número de estudos tem sido realizado com os açúcares e lipídeos, contidos nos frutos e sementes de algumas espécies de *Annona*, devido a sua importância econômica e nutricional (LEBOUEF *et al.*, 1982).

2.3.1. ALCALÓIDES APORFINÓIDES E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Os aporfinóides (FIGURA 5) representam um grande grupo e ainda em expansão de alcalóides isoquinolínicos com mais de 500 compostos isolados e identificados até o momento. São bases tetracíclicas formadas pelo acoplamento direto dos anéis aromáticos A e D do típico núcleo benziltetraidroisoquinolino. Além de serem encontrados como principais produtos biossintéticos de espécies de Annonaceae, os aporfinóides também são encontrados em espécies pertencentes às famílias Berberidaceae, Lauraceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Monimiaceae (todas anteriores pertencentes a ordem Magnoliales), Ranunculaceae (ordem Ranales), Papaveraceae (ordem Rhodales) e Rhamnaceae (ordem Rhamnales) (STÉVIGNY *et al.*, 2005).

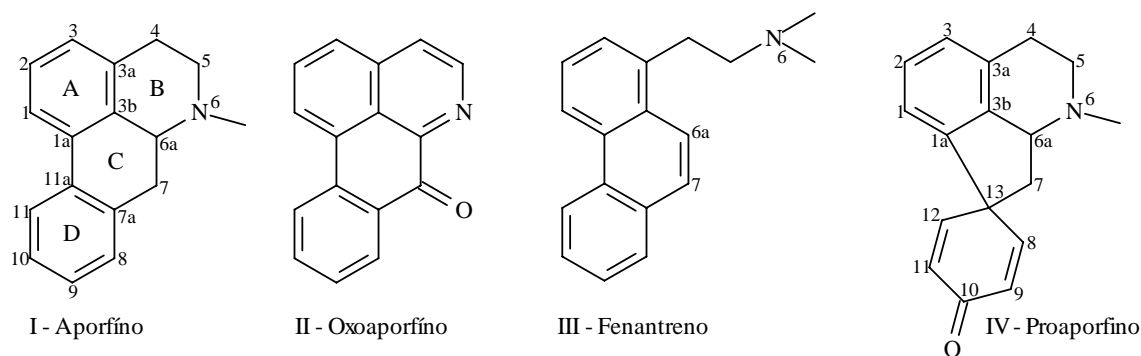


FIGURA 5. Esqueletos básicos dos aporfinóides.

O termo aporfinóide originou-se do rearranjo da catálise ácida da (-)-morfina, o qual resultou na formação da base (-)-apomorfina, observada por volta de 1869 (FIGURA 6). Posteriormente em 1900 a estrutura da apomorfina foi determinada por degradação e subsequente confirmada através de síntese (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984).

Os aporfinóides incluem os alcalóides aporfinos *sensu stricto*, oxoaporfins e fenantrenos, e têm sido encontrados praticamente em todos os gêneros desta família, com destaque para os gêneros *Annona*, *Xylopi*a, *Isolona*, *Enantia*, *Duguetia*, *Polyalthia*, *Artabotrys*, *Pachypodanthium* e *Guatteria* (GUINAUDEAU *et al.*, 1975, 1979, 1983, 1988, 1994; LEBOEUF *et al.*, 1982).

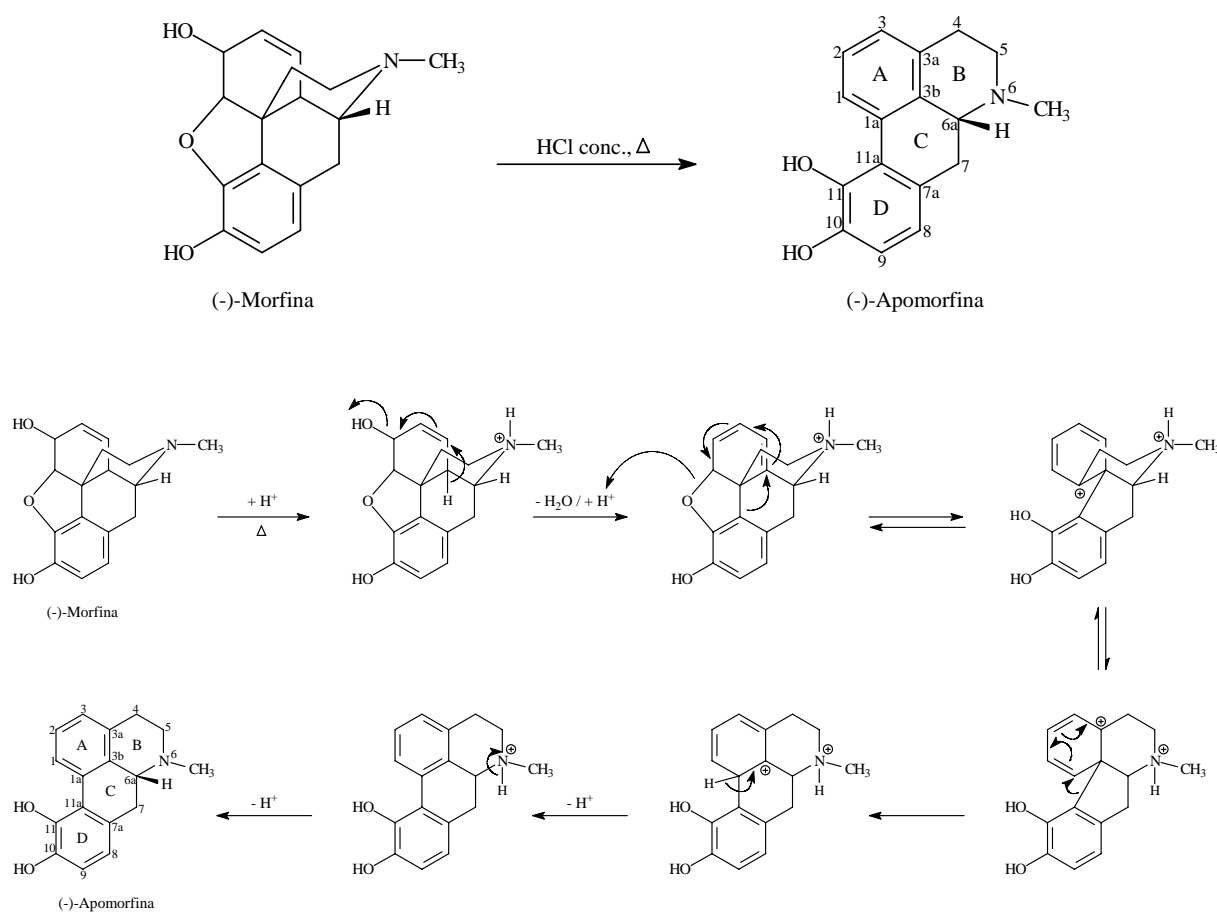


FIGURA 6. Síntese da apomorfina.

Os **aporfinos** representam o maior grupo dos aporfinóides dividido em quatro subgrupos: os *aporfinos sensu stricto* com esqueleto típico da estrutura (I) que exibem *O*-substituição apenas no anel A ou nos anéis A e D, geralmente grupos OH, OCH₃ ou OCH₂O. Os aporfinos são também frequentemente compostos opticamente ativos; os desidroaporfinos que são um subgrupo pequeno distinto dos aporfínoes pela adição de uma insaturação entre C-6a e C-7; *7-alkilaporfinos* em que o grupo alquil sempre se origina como uma metila substituinte, também invariavelmente contém um centro de insaturação, algumas vezes como um desidroaporfino, ou como um 6,6a-desidroaporfino, ou em alguns casos como um 4,5,6,6a-tetradeshidroaporfino com uma aromaticidade total no anel B; e finalmente os *aporfinos 7-oxigenados* ou ocasionalmente *4,7-dioxigenados* que incluem alguns alcalóides com substituintes metilas geminais ou hidroxilas no C-7 (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

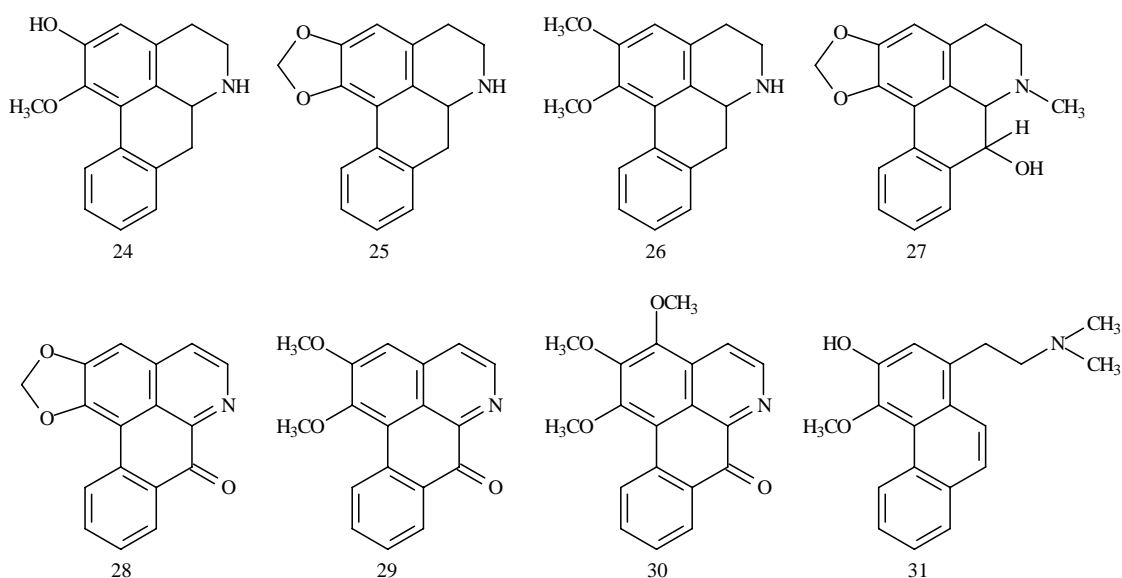
Os **oxoaporfinos** (II) apresentam uma carbonila em C-7 e um esqueleto aporfínico aromático com alta conjugação. Geralmente são compostos coloridos com coloração

amarelada, alaranjanda e/ou avermelhada. Alguns alcalóides oxoaporfínicos estão entre a maioria distribuídos na família Annonaceae. Um pequeno grupo de alcalóides apresenta a substituição oxo no anel B em C-5 ou em C-4 e C-5, sendo estes chamados de dioxoaporfinos e também são bastante encontrados em espécies da família Annonaceae (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

Os alcalóides **fenantrenos (III)** são originados a partir dos aporfinos devido a uma quebra entre N-6 e C-6a levando à formação do núcleo fenantreno com uma cadeia etilamina, e uma ou duas metilas ligadas ao nitrogênio (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

Os **proaporfinos (IV)** são numericamente um grupo minoritário dentro da família Annonaceae, mas com um papel importante como precursores de alguns outros tipos de aporfinoídes (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

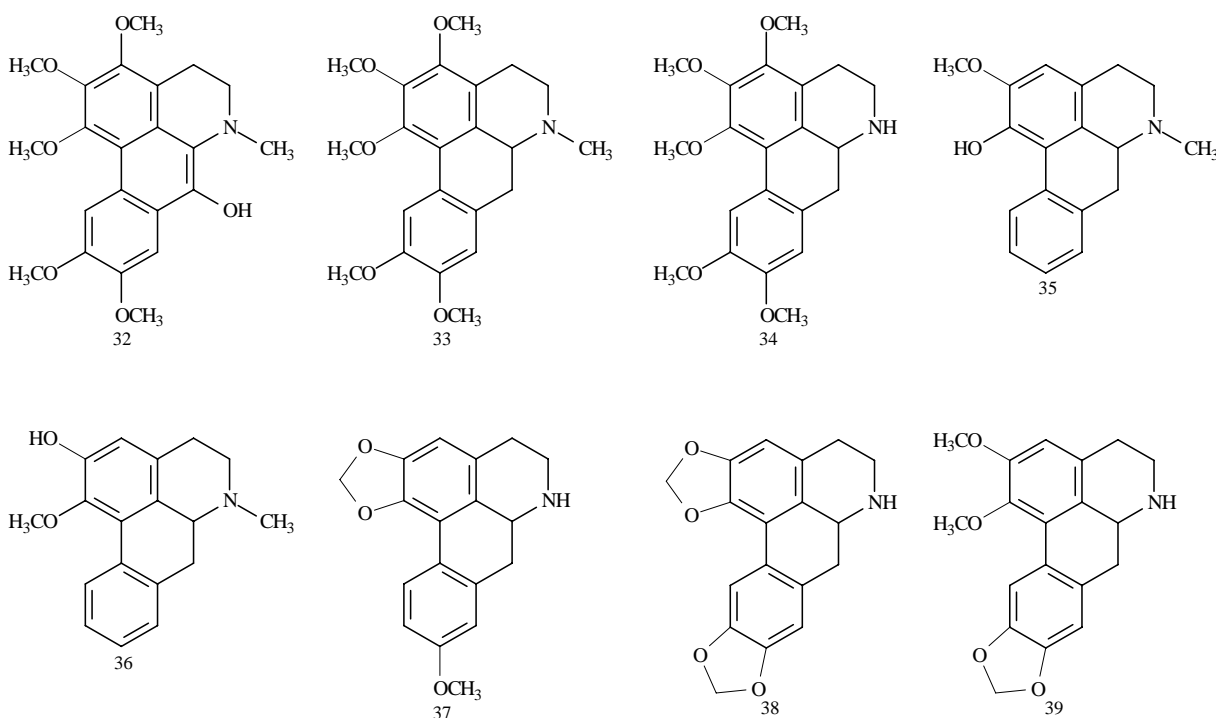
Os aporfinoídes mais comuns encontrados nas espécies de Annonaceae são: os aporfínicos asimilobina (7), isoboldina (24), anonaina (25), nornuciferina (26), norushinsunina (8) e oliveridina (27); os oxoaporfínicos lanuginosina (9), liriodenina (28), lysicamina (29) e *O*-metilmoschatolina (30); e os fenantrenos atherosperminina (10) e argentinina (31).



Diversas atividades biológicas têm sido atribuídas aos aporfinoídes, tais como: efeito citotóxico *in vitro* contra linhagens de células cancerígenas, atividade antiagregação plaquetária *in vivo*, ação vasodilatadora, atividade antiparasitária *in vitro*, atividade antimicrobiana (antibacteriana e antifúngica), antioxidante, larvicida e antiviral (PAULO *et al.*,

1992; QUEIROZ *et al.*, 1996; CHANG *et al.*, 1998; MONTENEGRO *et al.*, 2003; STÉVIGNY *et al.*, 2005).

O alcalóide aporfino *sensu stricto* anonaina (25) apresenta atividades antimicrobiana (PAULO *et al.*, 1992), antitumoral (STÉVIGNY *et al.*, 2005) e tripanomicida *in vitro* (QUEIROZ *et al.*, 1996). A atividade antiagregação plaquetária *in vivo* tem sido atribuída aos alcalóides aporfinos 7-hidroxi-desidrothalicsimidina (32), thalicsimidina (33), norpurpureina (34), lirinidina (35) e *N*-metilasimilobina (36) (CHANG *et al.*, 1998). MONTENEGRO *et al.* (2003) determinaram a atividade leishmanicida para os aporfinos *sensu stricto* xylopina (37) e nornuciferina (26) isolados de *Guatteria amplifolia*, e cryptodorina (38) e nornantenina (39) isolados de *Guatteria dumetorum*.

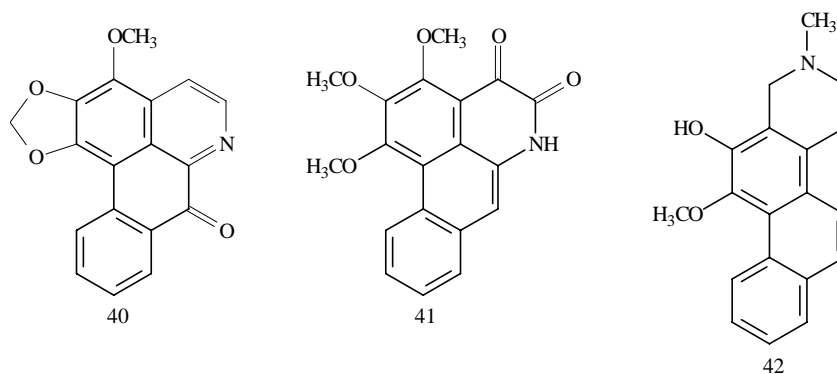


Liriodenina (28) o composto mais representativo desta família, é encontrado praticamente em todos os gêneros já estudados, e apresenta propriedades leishmanicida *in vitro* (QUEIROZ *et al.*, 1996; COSTA *et al.*, 2006), antitumoral (WU *et al.*, 1993; STÉVIGNY *et al.*, 2005) e antimicrobiana (KHAN *et al.*, 2002; LÓPEZ *et al.*, 2002; RAHMAN *et al.*, 2005). Lysicamina (29), outro alcalóide amplamente distribuído nesta família, possui propriedade leishmanicida (MONTENEGRO *et al.*, 2003), enquanto que *O*-metilmoschatolina (30) apresenta atividade antimicrobiana (RAHMAN *et al.*, 2005). Já atherospermidina (40) apresenta atividade antitumoral (STÉVIGNY *et al.*, 2005).

Ouregidiona (41), um alcalóide dioxoaporfino exibiu forte atividade larvica contra larvas de *Aedes aegypti* (EE *et al.*, 1999) e atividade citotóxica contra diversas células tumorais (WIJERATNE *et al.*, 1996).

Dentre os alcalóides oxoaporfinos descritos com atividades biológicas merecem destaque liriodenina (28), lysicamina (29), *O*-metilmoschatolina (30) e atherospermidina (40), considerados marcadores quimiotaxonômicos desta família.

Os alcalóides fenantrenos annoretina (42) [3-hidroxi-4-metoxi-*N*-metil-tetraidropirido(4,3-*a*)fenantreno] e argentinina (31) isolados das folhas de *Annona montana* demonstraram forte atividade antitumoral *in vitro* contra células de carcinoma humano nasofaríngeo (KB), carcinoma humano de pulmão (A-549), murino (P-388) e câncer de cólon (HT-29) (WU *et al.*, 1993).



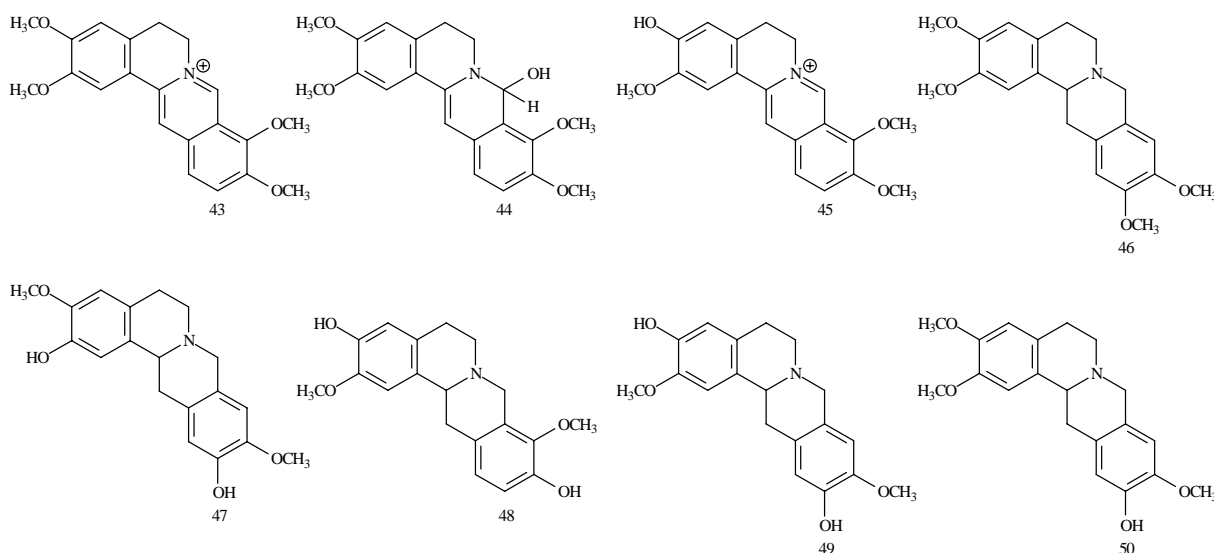
Em recente comunicação STÉVIGNY *et al.* (2005) publicaram uma revisão sobre as potencialidades citotóxicas e antitumorais dos alcalóides aporfinóides e suas contribuições para o desenvolvimento de novos agentes antitumorais. Além das atividades citotóxicas e antitumorais, também são citadas outras atividades biológicas dos aporfinóides.

2.3.2. ALCALÓIDES PROTOBERBERINOS E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Outro grupo de alcalóides bastante encontrado em espécies de Annonaceae é o dos alcalóides protoberberínicos e tetraidroprotoberberínicos. Os alcalóides dessa classe têm sido encontrados com frequência no gênero *Enantia*, porém há relatos do isolamento destes nos gêneros *Annona*, *Asimina*, *Duguetia*, *Monanthotaxis*, *Pachypodanthium*, *Polyalthia*, *Rollinia*, *Schefferomitha* e *Xylopia* (LEBOEUF *et al.*, 1982; SETTE *et al.*, 2000; LÓPEZ *et al.*, 2002). Entre os alcalóides protoberberinos isolados no gênero *Enantia* merece destaque palmatina (43) encontrada nas espécies *E. chlorantha*, *E. pilosa* e *E. polycarpa*, devido sua importância quimiotaxômica para o gênero (LEBOEUF *et al.*, 1982; WAFO *et al.*, 1999). Em estudos

anteriores um novo alcalóide protoberberino denominado 7,8-diidro-8-hidroxipalmatina (44) foi isolado das cascas de *E. chlorantha* (WAFO *et al.*, 1999).

Os alcalóides protoberberínicos e tetraidroprotoberberínicos mais comuns encontrados são: palmatina (43), jatrorrhizina (45), xylopinina (46), coreximina (47) e discretamina (48).



Assim como observado para os alcalóides aporfinóides diversas atividades biológicas também têm sido atribuídas aos alcalóides tetraidroprotoberberinos e protoberberínicos, tais como: antiinflamatória, antitumoral, antimicrobiana e antiparasitária (KÜPELI *et al.*, 2002; MARTÍNEZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2005; GRICOVÁ *et al.*, 2007).

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ *et al.* (2005) exibiram a atividade citotóxica contra diferentes células tumorais para os alcalóides tetraidroprotoberberinos corytenchina (49) e isocoreximina (50) isolados das raízes de *Annona cherimolia*. Palmatina (43) possui atividade antipirética (KÜPELI *et al.*, 2002), enquanto jatrorrhizina (45) possui atividades antitumoral e antimicrobiana (GRICOVÁ *et al.*, 2007). Berberina (5) outro alcalóide protoberberínico encontrado em espécies de Annonaceae possui diversas atividades biológicas tais como, efeito antidiabético, antiinflamatório, antimalárico, antimicrobiano, antitumoral, entre outras (KÜPELI *et al.*, 2002; GRICOVÁ *et al.*, 2007).

2.4. O GÊNERO *GUATTERIOPSIS* R.E. FRIES (1934)

Guatteriopsis R.E. Fries pertence ao grupo *Guatteria* constituído de quatro gêneros: *Guatteria*, *Guatteriopsis*, *Guatteriella* e *Heteropetalum* (KESSLER, 1993). É um dos 26

gêneros da família Annonaceae no Brasil, compreendendo cinco espécies (*G. blepharophylla*, *G. friesiana*, *G. hispida*, *G. ramiflora* e *G. kuhlmannii*). Seu centro de distribuição está na América do Sul, principalmente na Amazônia Brasileira. No Brasil, possui distribuição marcante sendo encontradas quatro espécies das cinco conhecidas (*G. blepharophylla*, *G. friesiana*, *G. hispida* e *G. kuhlmannii*). Seus representantes são geralmente arvoretas encontradas em áreas de platô e vertente, conhecidas popularmente como envireiras pela presença de fibras longas e resistentes nas cascas (RIBEIRO *et al.*, 1999; MAAS *et al.*, 2007). Os seus frutos são apocárpicos (os monocarpas são em geral estipitados), indeiscente contendo uma semente. Embora seja um gênero característico da flora brasileira, existem poucas informações na literatura principalmente em relação a estudos fitoquímicos, sendo relatado até o presente apenas um estudo fitoquímico envolvendo a espécie *G. blepharophylla* (MAIA *et al.*, 2005). Em virtude desse fato e a grande importância econômica da família Annonaceae nas últimas décadas o presente trabalho tem como principal finalidade o estudo fitoquímico e biológico de três espécies brasileiras *G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*. Para *G. hispida* o estudo fitoquímico e biológico se concentrou apenas nos óleos essenciais obtidos da folhas, devido a mesma ser considerada uma espécie rara, sendo encontrada apenas um exemplar no local de coleta.

Na TABELA 2 é apresentada a classificação taxonômica das três espécies selecionadas para o estudo.

TABELA 2. Classificação Taxonômica das espécies em estudo

Classificação Taxonômica	<i>G. blepharophylla</i>	<i>G. friesiana</i>	<i>G. hispida</i>
Reino		Plantae	
Subreino		Viridaeplantae	
Filo		Tracheophyta	
Subfilo		Spermatophytina	
Infracilo		Angiospermae	
Classe		Magnoliopsida	
Suclasse		Magnoliidae	
Superordem		Magnoliales	
Ordem		Magnoliales	
Família		Annonaceae	
Gênero		Guatterioopsis	
Espécie	blepharophylla	friesiana	hispida
Nome Botânico	Guatterioopsis blepharophylla	Guatterioopsis friesiana	Guatterioopsis hispida

Fonte: KESSLER (1993).

ERKENS *et al.* (2007) baseado na análise molecular filogenética do gênero *Guatteria* e seus gêneros satélites *Guatterioopsis*, *Guatterioella* e *Heteropetalum*, sugerem que os gêneros sejam reunidos dentro de *Guatteria*.

ERKENS & MAAS (2008) confirmam os resultados anteriores (ERKENS *et al.*, 2007) e transferem todas as espécies dos gêneros satélites para dentro de *Guatteria*. Optou-se em manter as espécies com a classificação antiga procurando através da quimiotaxonomia entre os gêneros *Guatteria* e *Guatteria* contribuir com os estudos realizados por ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008).

2.4.1. *GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA* (MART.) R.E. FRIES (1934)

Guatteriaopsis blepharophylla (Mart.) R.E. Fries (FIGURA 7) é uma arvoreta do sub-bosque variando de 3-6 m de altura e cerca de 5 cm de diâmetro conhecida popularmente como envireira e envira. Apresenta ramos jovens e pecíolos densamente cobertos com pêlos adpressos e castanhos, glabros com o tempo. A face inferior da folha apresenta o mesmo indumento. A base é estreitamente aguda, decurrente. Apresenta 16-23 nervuras secundárias. É considerada de ocorrência ocasional com hábito de platô e vertente. Distribui-se na Amazônia brasileira, peruana, guianense, equatoriana e venezuelana (RIBEIRO *et al.*, 1999; ERKENS *et al.*, 2007; MASSAS *et al.*, 2007).



FOTOS: COSTA, E.V. 2005.

FIGURA 7. Imagens da espécie *G. blepharophylla*: (a) árvore; (b) casca e caule; (c) folhas e frutos; e (d) inflorescência.

2.4.2. *GUATTERIOPSIS FRIESIANA* W.A. RODRIGUES (1981)

Guatteriaopsis friesiana W.A. Rodrigues (FIGURA 8) é uma arvoreta do sub-bosque variando de 3-10 m de altura e 4-10 cm de diâmetro conhecida popularmente como envireira e envira. Apresenta ramos jovens e pecíolos densamente cobertos com indumento velutino de pequenos pêlos eretos, marrom-escuros e persistentes. A face inferior da folha possui pêlos adpressos e marrons. A base é largamente cordada. Apresenta 10-20 nervuras secundárias obscuras. Considerada rara com hábito de platô e vertente. Distribui-se na Amazônia brasileira e colombiana (RIBEIRO *et al.*, 1999; ERKENS *et al.*, 2007; MASSAS *et al.*, 2007).



FOTOS: COSTA, E.V. 2005.

FIGURA 8. Imagens da espécie *G. friesiana*: (a) árvore; (b) casca e caule; e (c) folhas e frutos.

2.4.3. *GUATTERIOPSIS HISPIDA* R.E. FRIES (1934)

Guatteriaopsis hispida (FIGURA 9) é uma arvoreta variando de 2,5-6 m de altura e 5 cm de diâmetro conhecida popularmente como envireira e envira da folha peluda. Apresenta ramos jovens e pecíolos densamente cobertos por longos pêlos marrons (até 2 mm de comprimento), patentes e persistentes. A face interior da folha é densamente coberta com longos pêlos patentes e marrons. A base é obtusa a aguda. Apresenta 10-16 nervuras secundárias. É considerada de ocorrência ocasional com hábito de platô e vertente. Distribui-se na Amazônia brasileira (RIBEIRO *et al.*, 1999; ERKENS *et al.*, 2007; MASSAS *et al.*, 2007).

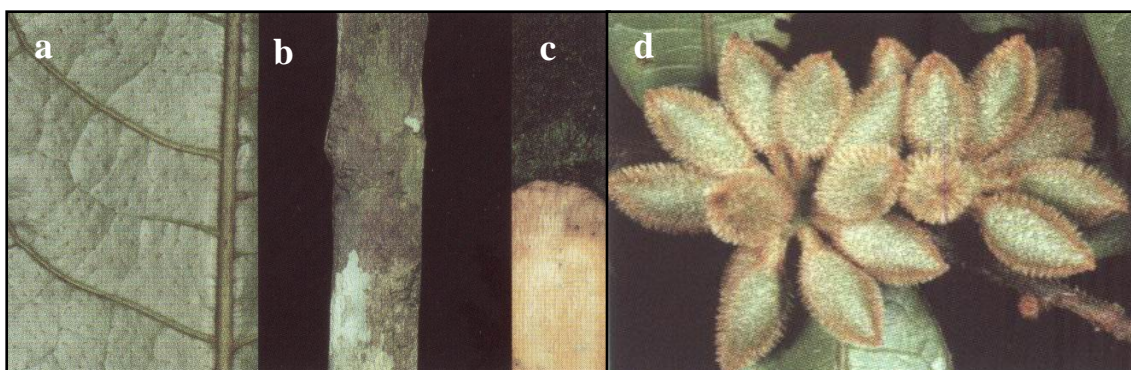


FIGURA 9. Imagens da espécie *G. hispida*: (a) folha; (b) caule; (c) casca e cerne; e (d) frutos.

FONTE: RIBEIRO *et al.*, 1999.

2.5. BIOSÍNTESE DOS ALCALÓIDES

A biossíntese dos alcalóides vem sendo extensivamente estudada e atualmente, pode-se traçar um esquema para a rota biossintética de vários deles. Contudo essas rotas metabólicas não foram ainda completamente delineadas em termos bioquímicos, pois muitas enzimas envolvidas nas diversas etapas ainda não foram isoladas e caracterizadas. Normalmente, a formação do sistema heterocíclico dos alcalóides ocorre através de reações inter- ou intra-moleculares, através de dois mecanismos gerais: formação de bases de Schiff e reações de Mannich (FIGURA 10) (DEWICK, 2002).

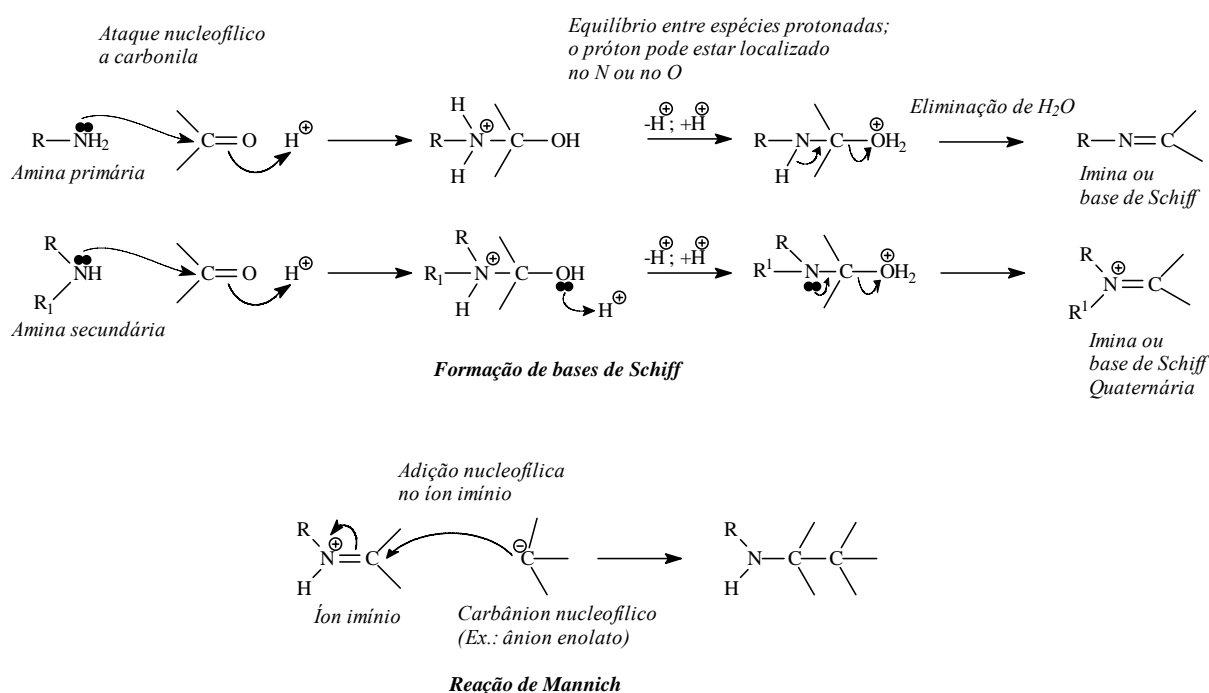


FIGURA 10. Formação de base de Schiff e reação de Mannich.

FONTE: Adaptado de DEWICK, 2002.

Os alcalóides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados de alcalóides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com o átomo de nitrogênio não pertencente a um sistema heterocíclico são denominadas de protoalcalóides. Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de amino-acidos são chamados de pseudoalcalóides.

De uma maneira geral, o átomo de nitrogênio nos alcalóides é originado dos aminoácidos (alcalóides verdadeiros e protoalcalóides) e o anel heterocíclico formado fornece a base para sua classificação química. Os amino ácidos protéicos comumente utilizados na biossíntese dos alcalóides são: ácido L-aspártico (piridinas, isoquinoleínas), L-lisina (piperidinas, quinolizidinas), L-tirosina (isoquinolinas, benzilisoquinolinas, betalaínas), L-triptofano (derivados da tripanamida, β -carbolinas, indóis complexos) e L-histidina (imidazóis). O aminoácido não-protéico L-ornitina dá origem aos alcalóides com núcleo pirrolidínico, pirrolizidínico e tropânico (LUCKNER, 1990; MANN, 1994). O aminoácido L-fenilalanina não dá origem a muitos alcalóides, contudo é normalmente a origem dos anéis aromáticos em alcalóides complexos e pode também contribuir como fonte de agrupamento alfa-amino em muitas estruturas (HASLAM, 1993).

2.5.1. BIOSÍNTESE DOS APORFINÓIDES

Os precursores do esqueleto aporfino são claramente estabelecidos como 1-benziltetraidroisoquinolinos (FIGURA 11) (PELLETIER, 1987). A biossíntese dos alcalóides benziltetraidroisoquinolinos nas plantas começa com uma matriz de reações que gera o primeiro alcalóide benziltetraidroisoquinolino, (*S*)-norcocclaurina (FIGURA 12).

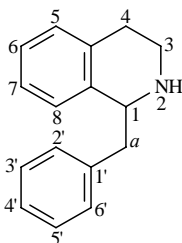


FIGURA 11. Esqueleto básico dos alcalóides benziltetraidroisoquinolinos.

O caminho biossintético começa com duas moléculas de L-tirosina. Uma é descarboxilada para a forma tiramina e pode sofrer ação da enzima fenol oxidase formando a

L-dopamina. O esqueleto benzil da (*S*)-norcoclaurina é formado pela transaminação da segunda molécula de L-tirosina formando o ácido 4-hidroxifenilpirúvico, que é em seguida descarboxilado para 4-hidroxifenilacetaldeído. Dopamina e 4-hidroxifenilacetaldeído são depois estereoseletivamente condensados formando (*S*)-norcoclaurina. Uma série de reações de metilação e oxidação dão origem ao intermediário benziltetraidroisoquinolino (*S*)-reticulina precursor dos alcalóides isoquinolínicos e benziltetraidroisoquinolínicos incluindo os derivados bisbenziltetraidroisoquinolinos, benzilisoquinolinos, bisbenzilisoquinolinos, aporfinos, protoberberinos e tetraidroprotoberberinos (FIGURA 12) (CROTEAU *et al.*, 2000; DEWICK, 2002; STÉVIGNY *et al.*, 2005).

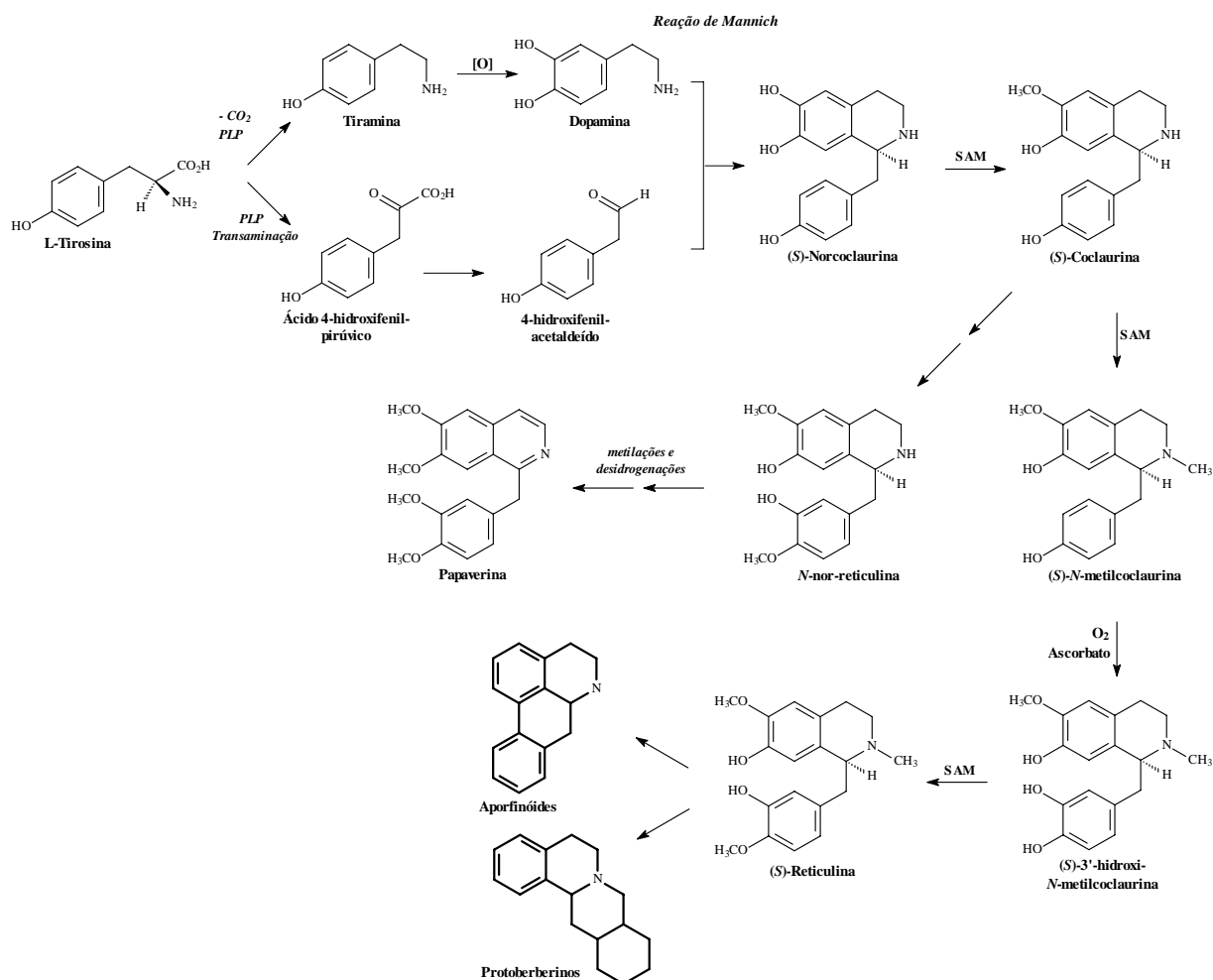


FIGURA 12. Biossíntese dos alcalóides benziltetraidroisoquinolinos.

Fonte: Adaptado de DEWICK, 2002.

A rota mais simples para a biossíntese dos aporfinóides envolve o acoplamento oxidativo direto da (*S*)-reticulina na forma do radical *bis*-dienona. Consequentemente os dois radicais podem ser *orto-orto* a ser iniciado nos anéis A e D contendo o grupamento fenol, em

que nesse caso resultaria em um padrão de substituição nas posições 1,2,10,11, ou *orto-para* resultando em um aporfino com substituição nas posições 1,2,9,10 (FIGURA 13) (PELLETIER, 1987).

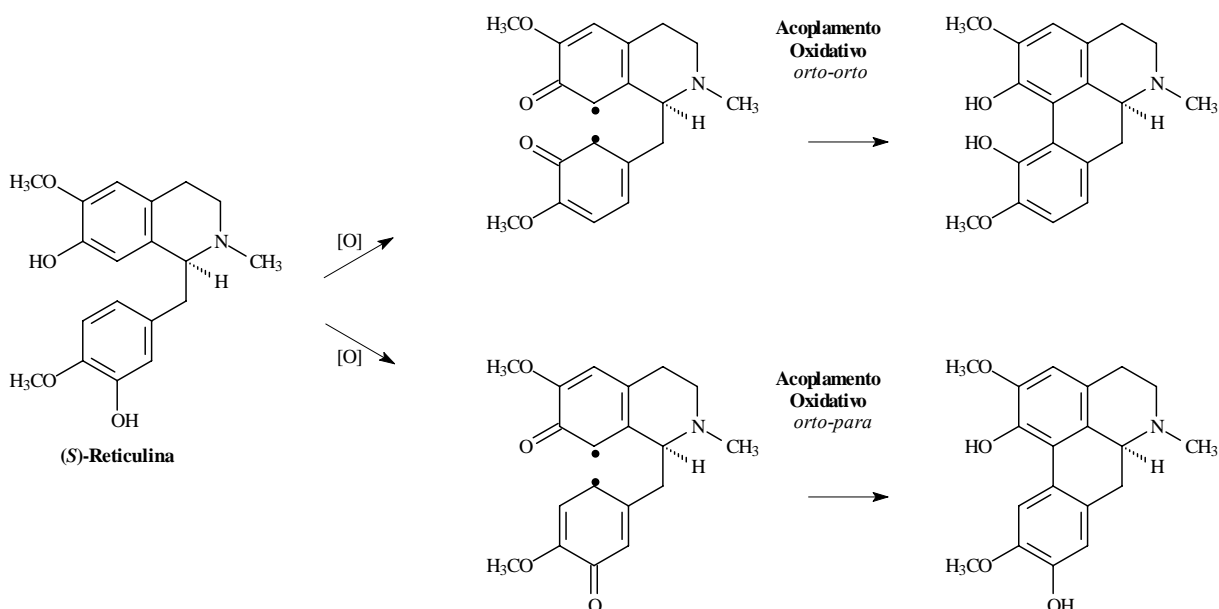


FIGURA 13. Biossíntese dos alcalóides aporfínicos.
FONTE: Adaptado de PELLETIER, 1987.

Uma rota alternativa propõe a formação de aporfinos através de intermediários proaporfinos. Um exemplo dessa biossíntese é verificada para o trissubstituído benziltetraidroisoquinolino *N*-metilcoclaurina precursor da roemerina, em que no anel D falta oxigenação e mecambrolina em que o anel D retém a substituição em C-10 (FIGURA 14). Esta conversão é explicada pela formação do dirradical de **I** e sua ciclização para o proaporfino conhecido glaziovina **II**. Protonação da carbonila dienona (C-10) de **II** com conseqüente rearranjo fenol-dienona conduz diretamente para o padrão de substituição-1,2,10 de **III**, requerendo apenas uma subseqüente formação do anel metilenodioxi originando mecambrolina (**III**). Num outro sentido, uma redução inicial da carbonila dienona para o correspondente proaporfino **IV** pode então levar, via protonação, para desidratação através de um rearranjo benzeno-dienol levando a formação de um aporfino 1,2-substituído que novamente precisa apenas da formação do anel metilenodioxi resultando no aporfino roemerina **V** (FIGURA 14) (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

O mesmo pode ser feito para os alcalóides benziltetraidroisoquinolino tetrassubstituídos, como por exemplo, para a (*S*)-orientalina precursor da isotebaina através do intermediário

orientalinona, e depois através do intermediário orientalinol e um rearranjo do benzeno-dienol (FIGURA 15) (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987; DEWICK, 2002).

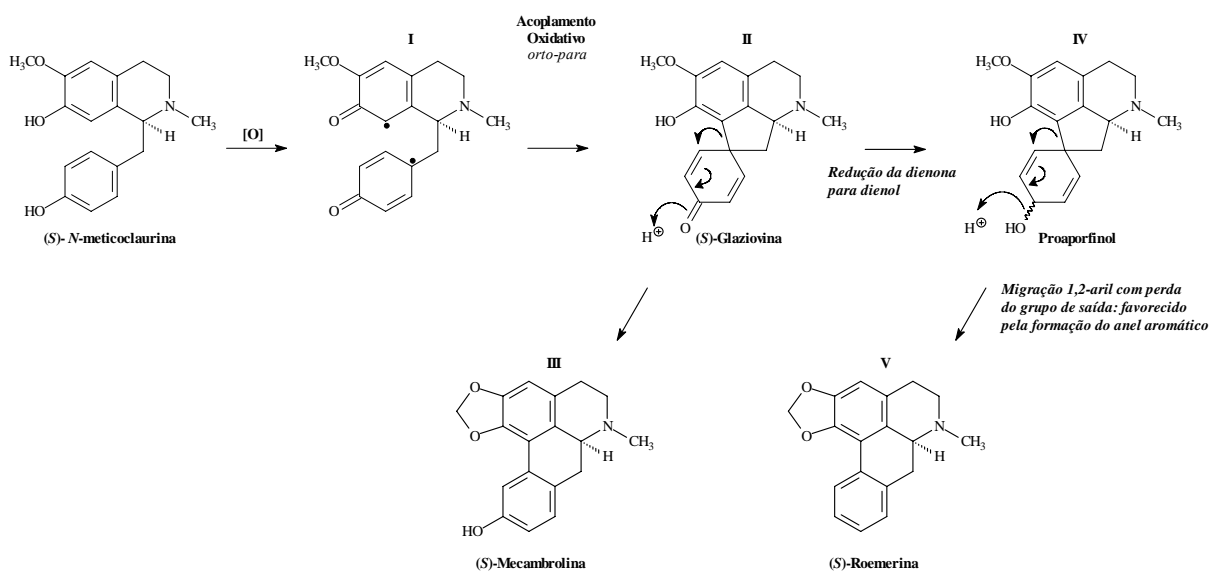


FIGURA 14. Biossíntese dos alcalóides aporfínicos a partir do intermediário proaporfíno (glaziovina).

FONTE: Adaptado de PELLETIER, 1987.

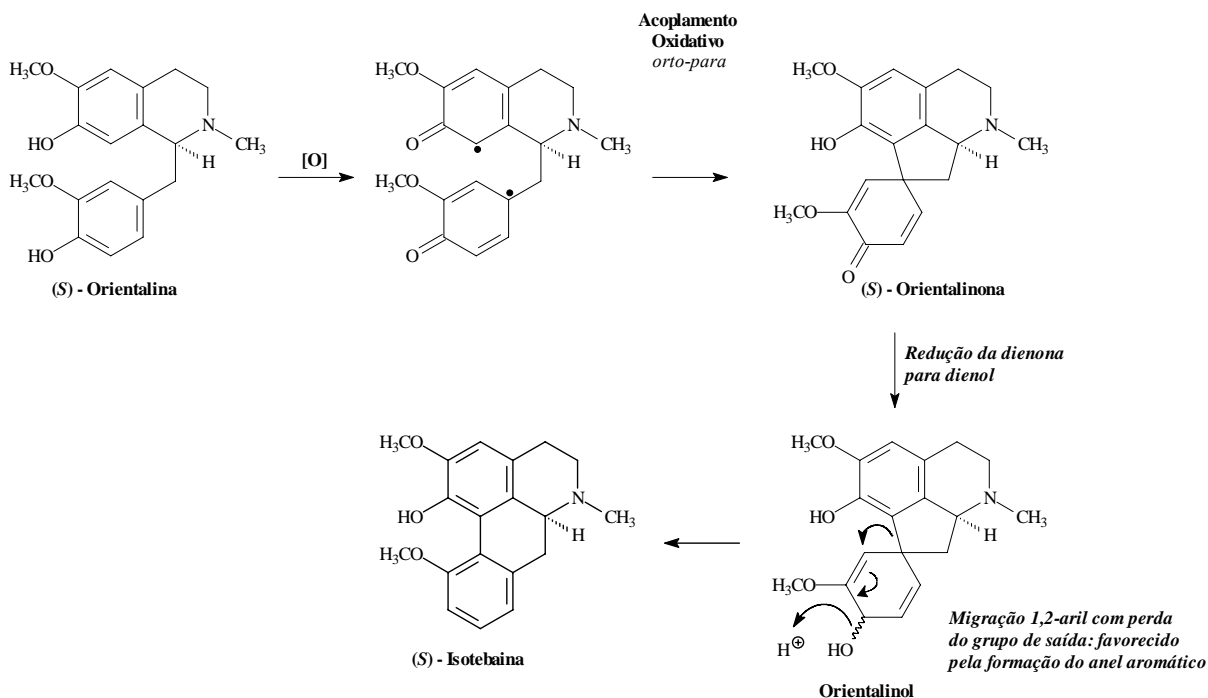


FIGURA 15. Biossíntese dos alcalóides aporfínicos a partir de um intermediário proaporfíno (orientalinona).

FONTE: Modificado de DEWICK, 2002.

Os alcalóides desidroaporfínicos são biossintetizados a partir dos correspondentes aporfínicos pela oxidação em C-6a e C-7 (FIGURA 16) e são provavelmente os intermediários

chave na biossíntese dos alcalóides oxoaporfínicos, 7-oxigenados e 7-alkilaporfínicos. Embora alguns alcalóides desidroaporfínicos sejam conhecidos naturalmente, eles são geralmente muito instáveis para serem caracterizados completamente (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

Não há estudos *in vivo* sobre a biossíntese dos alcalóides oxoaporfínicos, mas uma sequência racional dos eventos envolveria a oxidação passo a passo de um idêntico aporfino substituído através dos desidroaporfínicos e depois 4,5,6a,7-tetradeshidroaporfino que seria suscetível à oxidação em C-7 conduzindo geralmente à formação do íon oxoaporfíneo instável 7-oxo-*N*-metoquaternário, que rapidamente perde o grupo *N*-metil originando o esqueleto oxoaporfino (FIGURA 16) (SHAMA & GUINAUDEAU, 1984; PELLETIER, 1987).

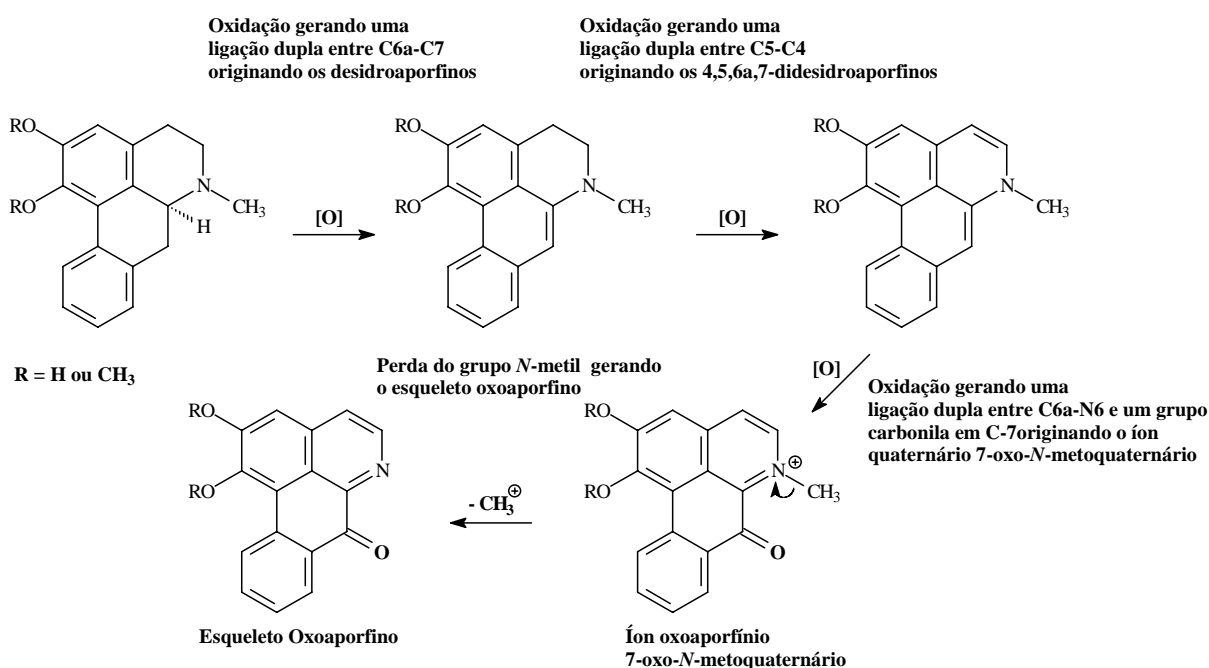


FIGURA 16. Biossíntese dos alcalóides oxoaporfínicos.

FONTE: Adaptado de PELLETIER, 1987.

Os desidroaporfínicos (**I**) são provavelmente a chave intermediária na formação dos compostos 7-oxigenados e 7-alkilaporfínicos (FIGURA 17), o grupo reativo enamina eletrofílico reage rapidamente com um grupo hidroxil ou um grupo metil doador conduzindo a correspondente imina 7-substituída (**II**). Esta imina pode ser também protonada em C-6a dando o produto 7-substituído (**III**) ou sofrer outra oxidação com regeneração de uma adicional enamina agora substituída em C-7 (**IV**). A enamina pode depois sofrer uma segunda adição dando a imina agora dissustituída em C-7 (**V**), ou alternativamente, através da perda

de um próton, o íon 4,5-diidro-*N*-metil oxoaporfíno, este oferecendo uma possível rota alternativa para os alcalóides oxoaporfínicos em que a geração da ligação dupla C-4-C-5 e *N*-metilação são os passos finais (VI).

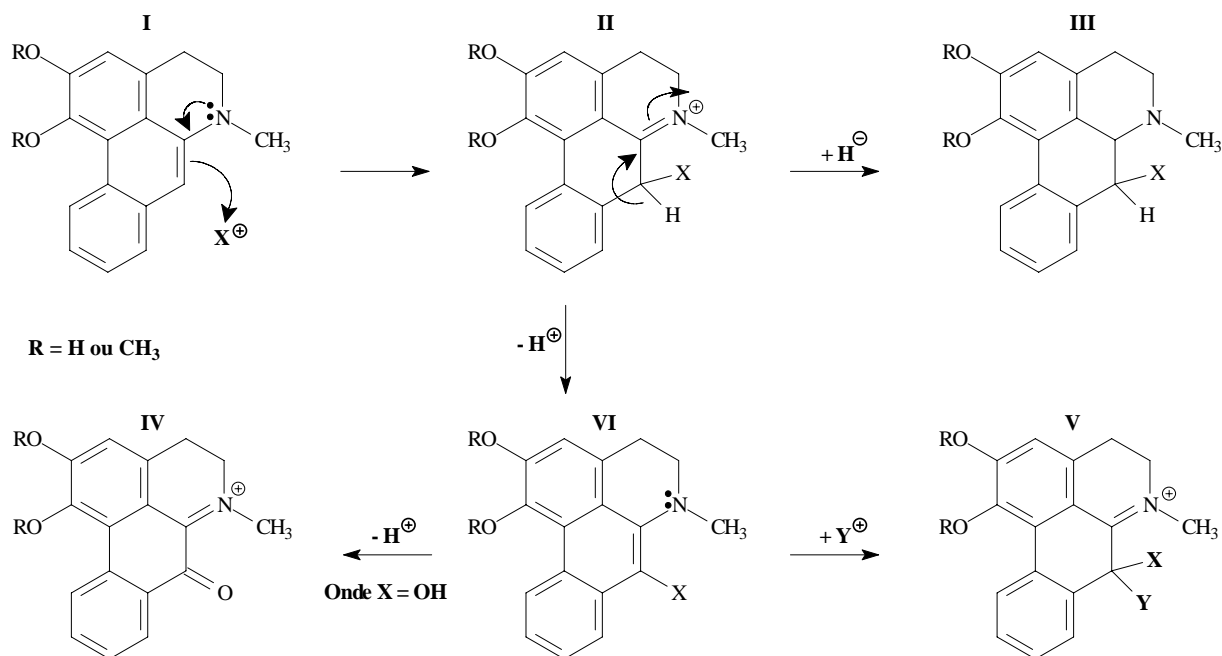


FIGURA 17. Biossíntese geral para os alcalóides aporfínicos 7-substituídos (X e Y = CH₃ e OH).
FONTE: Adaptado de PELLETIER, 1987.

O último grupo de alcalóides a ser considerado são os alcalóides fenantrenos. Estes alcalóides são obviamente o produto clássico de eliminação de Hoffmann do correspondente íon quaternário *N,N*-dimetil aporfíno (FIGURA 18).

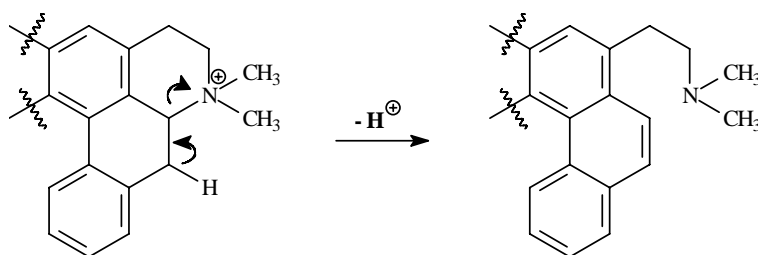


FIGURA 18. Biossíntese geral para os alcalóides fenantrenos.
FONTE: Adaptado de PELLETIER, 1987.

2.5.2. BIOSÍNTESE DOS PROTOBERBERINOS E TETRAIDROPROTOBERBERINOS

Assim como observado para os alcalóides aporfinóides, o precursor dos alcalóides tetraidroprotoberberinos e protoberberinos é o alcalóide benziltetraidroisoquinolino (*S*)-reticulina. O esqueleto tetracíclico dos alcalóides tetraidroprotoberberinos e protoberberinos é derivado do sistema benziltetraidroisoquinolino com a incorporação de um átomo de carbono extra oriundo da *S*-adenosilmetionina via um grupo *N*-metil (FIGURA 19). Este esqueleto carbônico extra é chamado de ponte berberina (“berberine bridge”). A formação da ponte berberina é racionalizada como um processo oxidativo em que o grupo *N*-metil é oxidado a um íon imínio, e uma ciclização do anel aromático ocorre por virtude do grupo fenólico (DEWICK, 2002). O processo oxidativo de ciclização é análogo ao da formação do grupo metilenodióxi, o mecanismo de ciclização é ainda exatamente o mesmo como aquele envolvido na formação do anel tetraidroisoquinolino (reação de Mannich). O produto da transformação enzimática da (*S*)-reticulina é o alcalóide tetraidroprotoberberino (*S*)-esculerina, a enzima ponte berberina requer oxigênio molecular como oxidante liberando água como produto. Seu papel na reação de ciclização completa, o grupo fenol na esculerina é depois metilado, e tetraidrocolumbamina é oxidado adicionalmente dando o sistema isoquinolino quaternário na columbamina (FIGURA 19). Este parece envolver dois passos separados de oxidação, ambos requerem oxigênio molecular, embora peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água (H_2O) são produzidos nos processos sucessivos. A sequência do mecanismo através de íon imínio tem sido levado em conta para estas observações. Finalmente, a berberina (FIGURA 19) é produzida pela transformação do grupo *orto*-metoxifenílico a metilenodióxi via o O_2^- , NADPH, e enzima dependente citocroma P-450 (FIGURA 19) (DEWICK, 2002).

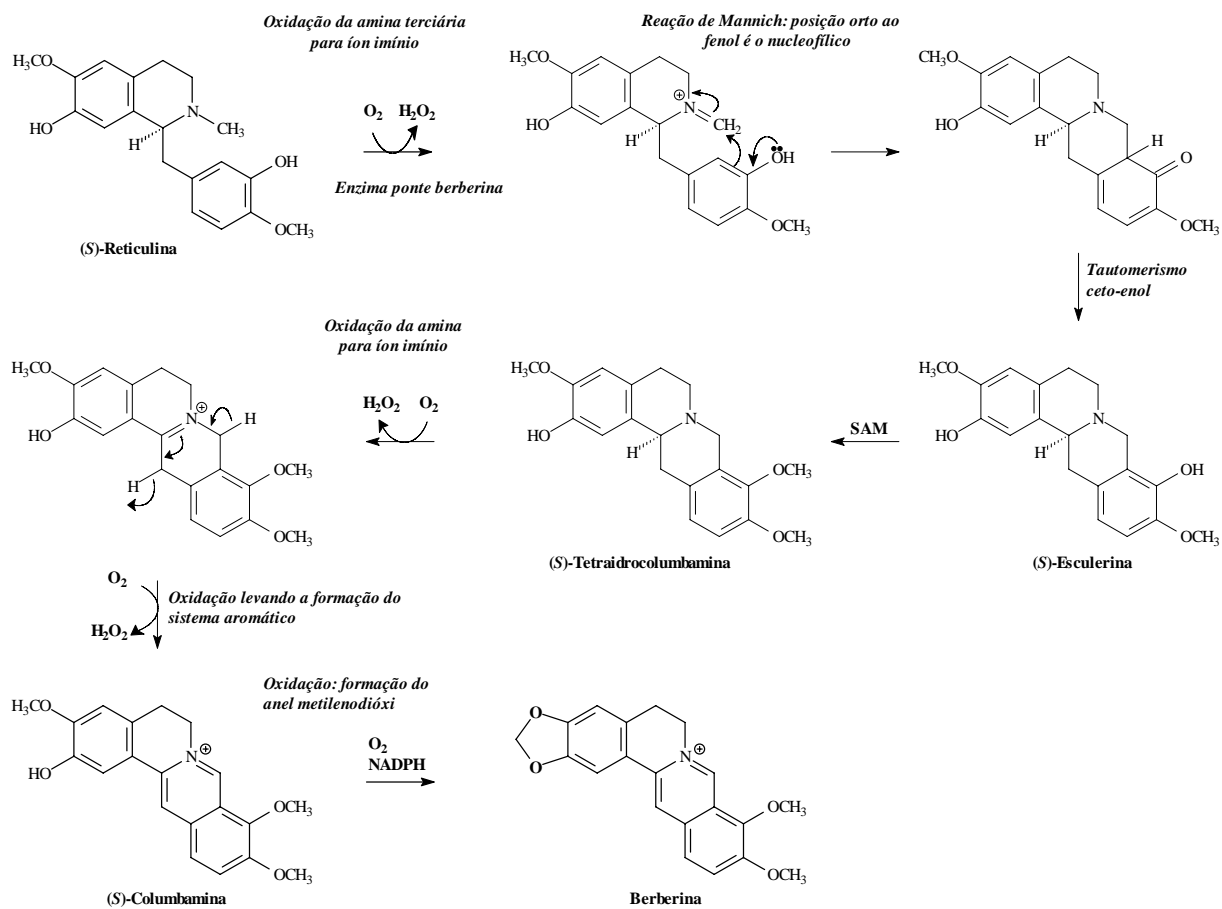


FIGURA 19. Biossíntese dos alcalóides tetraidroprotoberberinos e protoberberinos.
FONTE: Adaptado de DEWICK, 2002.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

- Ampliar o conhecimento acerca da composição química das espécies de plantas da família Annonaceae em particular pertencentes ao gênero *Guatteria*, tendo em vista a sua importância para o aproveitamento racional e a preservação da biodiversidade. Para isso, foi realizado o estudo da composição química das espécies *G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*.

3.2 ESPECÍFICOS

- Estudo fitoquímico das folhas, cascas e cerne das espécies *G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*;

- Realizar o ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*, avaliação de atividades antiproliferativa (antitumoral *in vitro*) e antimicrobiana (antifúngica e antibacteriana) com os extratos e frações direcionando para o isolamento das substâncias bioativas;

- Isolar e identificar os constituintes químicos dos extratos bioativos;

- Submeter às substâncias puras majoritárias à avaliação de atividades antitumoral e antimicrobiana de acordo com os resultados dos testes biológicos de seus respectivos extratos e/ou frações.

- Estudar os constituintes voláteis presentes nas folhas das espécies *G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*, bem como isolar e identificar os seus constituintes majoritários, e submetê-los a testes de atividade antimicrobiana.

4. METODOLOGIA

4.1. SUPORTES PARA CROMATOGRAFIA

- **Cromatografia em coluna (CC).** Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em coluna de vidro, utilizando como fase estacionária três tipos de suportes cromatográficos com as seguintes especificações: (i) sílica gel 60 com partículas entre 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM) da Merck; (ii) sílica gel 60 com partículas entre 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM) da Merck tratada previamente com solução de bicarbonato de sódio 10 % (NaHCO_3); e (iii) alumina neutra com partículas entre 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM) da Merck. O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas. A proporção de sílica e alumina foi cerca de 20 vezes a massa do produto bruto a ser purificado (MATTOS, 1997).

- **Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA).** As análises em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas Merck, sílica gel 60, com indicador de fluorescência F_{254} , com suporte em alumínio e 0,2 mm de espessura.

- **Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP).** As análises em escala preparativa foram desenvolvidas em cromatoplasmas de tamanho 20 x 20 e 10 x 10 cm, espessura de 1,0 mm. A visualização das faixas foi efetuada com auxílio de luz ultravioleta (254 e 366 nm). A recuperação das amostras foi efetuada utilizando como solventes: diclorometano (CH_2Cl_2), clorofórmio (CHCl_3) ou metanol (CH_3OH).

- **Reveladores.** A revelação das faixas foi feita sob luz ultravioleta 254 e 366 nm, solução de anisaldeído, solução de etanol/ácido sulfúrico 5-10%, reagente de Dragendorff, solução de vanilina sulfúrica e reagente de Keddl.

- **Solventes.** Para cromatografia foram utilizados solventes das marcas Merck, Synth, Vetec e Aldrich P.A. Para obtenção de espectros de RMN foram utilizados solventes deuterados das marcas Merck e Aldrich.

4.2. EQUIPAMENTOS

- A determinação do ponto de fusão foi realizada em um Aparelho marca Fisatom, modelo 430 acoplado a um termômetro com temperatura máxima de 300°C;

- As medidas de Rotação Ótica $[\alpha]_D^{25}$ foram realizadas em um polarímetro automático Rudolph Research Autopol III à temperatura ambiente utilizando como solventes CHCl_3 ou CH_3OH ;
- Os espectros de absorção na região do Ultravioleta foram registrados em um espectrofotômetro com arranjo de diodos Hewlett Packard, modelo HP 8452A, utilizando como solvente CH_3OH ;
- Os espectros de absorção na região do Infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro Biorad, modelo FTS-3500 GX com transformada de Fourier utilizando-se pastilhas comprimidas de brometo de potássio anidro (KBr) ou na forma filme aplicado sobre pastilhas de KBr;
- Os espectros de dicroísmo circular (dc) foram registrados em um espectrofotômetro JASCO J-720, utilizando como solvente CH_3OH ;
- Os espectros de ressonância magnética nuclear 1D e 2D foram registrados em aparelhos Bruker ARX-200, Avance 400, e Varian Inova 500, operando a 4,7, 9,4 e 11,7 Tesla (T), respectivamente, observando ^1H a 200, 400 e 500 MHz, e ^{13}C a 50, 100 e 125 MHz, respectivamente. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD) e misturas destes, utilizando o tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ) e as constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hertz (Hz). Os experimentos obtidos no aparelho Varian Inova 500 foram realizados na UNICAMP sobre responsabilidade da Professora Dra. Raquel Marques Braga, enquanto que os experimentos nos aparelhos Bruker foram realizados no próprio Departamento de Química da UFPR.
- Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro Micromass Q-TOF (Micromass, Manchester, UK) através da técnica de “Electron Spray Ionization” (ESI) e VG-Autospec através da técnica de impacto eletrônico (IE) operando a 70eV, sob a responsabilidade do Professor Dr. Marcos N. Eberlin do Instituto de Química da UNICAMP.
- Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos utilizando dois espectrômetros de massas, sendo um modelo Varian Saturn 2000 acoplado a um cromatógrafo gasoso modelo Varian 3800 GC system com coluna capilar VF-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) e outro Hewlett Packard 6890 acoplado a um detetor de massas seletivo Hewlett Packard 5973 com coluna capilar HP-5MS (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 mm), ambos através da técnica de impacto eletrônico operando a 70 eV. As condições de injeção foram: temperatura do

injetor 240 °C; temperatura programada do forno: 60-300 °C com um taxa de aquecimento de 3 °C/min; split: 20:1; gás de arraste: helio 1,0 mL.min⁻¹ fluxo constante: volume da amostra 1,0 µL.

- Os dados cristalográficos das estruturas cristalinas dos compostos foram obtidos com um difratômetro automático de raios X para monocristais ENRAF-NONIUS CAD-4. Para as resoluções e refinamento das estruturas cristalinas dos complexos foram empregados os programas SHELXS-97 (SHELDRICK, 1990) e SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997), respectivamente. A representação das estruturas moleculares foi produzida usando o programa ORTEP3 (FARRUGIA, 1997). A coleta de dados e a resolução das estruturas foram realizadas no Departamento de Química da UFSC sob responsabilidade do Professor Dr. Adailton João Bortoluzzi.

4.3. COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

O material botânico de *G. blepharophylla* (folhas, casca e cerne) foi coletado em Janeiro de 2005 no Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). O material botânico de *G. friesiana* (folhas, casca e cerne) também foi coletado em Janeiro de 2005 na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), uma área de três mil hectares, localizada no Km 38 da BR-174. Já o material botânico de *G. hispida* (folhas, casca e cerne) foi coletado em Julho de 2006 na Reserva Florestal Adolpho Ducke, uma área de 100 Km², pertencente ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), situada no Km 26 da AM-010, estrada que liga Manaus ao município de Itacoatiara.

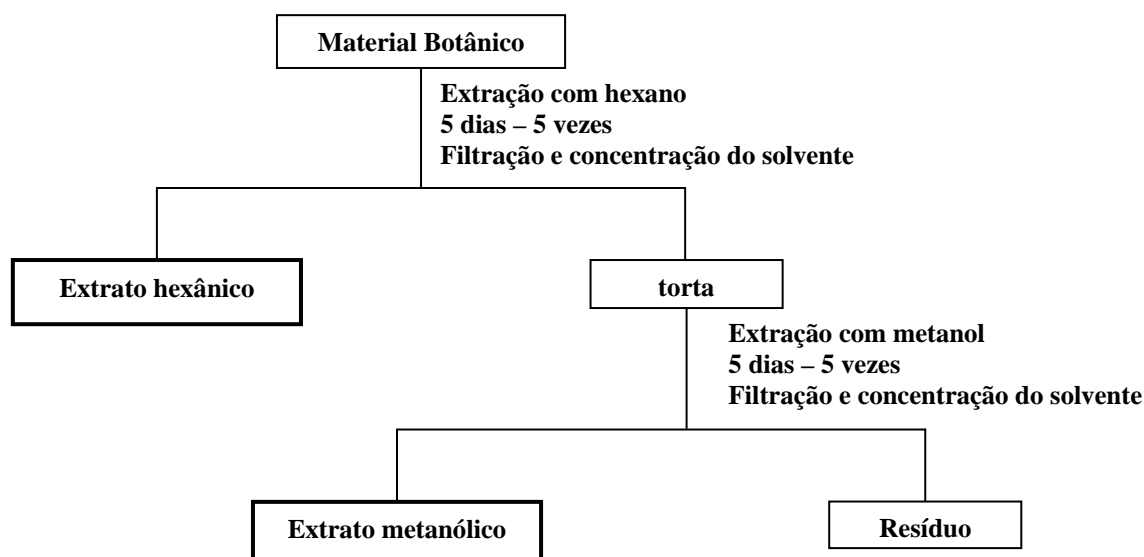
As espécies *G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida* foram identificadas pelo Professor Dr. Antônio Carlos Weber, do Departamento de Biologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), e as exsicatas foram depositadas no herbário da própria UFAM sob os números de registro 7340, 7341 e 7707, respectivamente.

4.4. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O material botânico das espécies em estudo (folhas, cascas e cerne), foi pré-seco à sombra à temperatura ambiente e colocado em estufa de ar circulante a 40°C, sendo em seguida triturados em moinho de quatro facas.

As folhas, cascas e cerne das espécies em estudo após secos, moídos e pesados, foram submetidos separadamente à extração a frio (maceração) com hexano e metanol, com renovação de solvente em intervalo de 24 horas. O resíduo remanescente foi desprezado conforme o ESQUEMA 1. Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, à temperatura de 40°C, e em seguida secados em dessecador.

Após completa secagem e cálculo dos rendimentos (TABELA 3), pequenas quantidades (aproximadamente 50 mg) dos extratos, foram retiradas e submetidas à realização dos testes biológicos. O estudo fitoquímico concentrou-se nos extratos e frações bioativos (ver TABELAS 61, 62 e 64).



ESQUEMA 1. Fluxograma de obtenção dos extratos.

TABELA 3. Obtenção dos Extratos

Espécie	Parte da planta	Massa (g)	Rendimento em g (%)			
			Extrato Hexânico (H)		Extrato Metanólico (M)	
<i>Guatteropsis friesiana</i> (F)	Casca	1900	FCH	27,11 (1,43)	FCM	260,62 (13,72)
	Cerne	2200	FCEH	2,92 (0,13)	FCEM	78,36 (3,56)
	Folhas	1300	FFH	77,64 (5,97)	FFM	215,80 (16,60)
<i>Guatteropsis blepharophylla</i> (B)	Casca	1500	BCH	28,18 (1,87)	BCM	212,50 (14,16)
	Cerne	2300	BCEH	24,18 (1,05)	BCEM	95,76 (4,16)
	Folhas	1700	BFH	70,23 (4,13)	BFM	352,76 (20,75)
<i>Guatteropsis hispida</i> (H)	Casca	78	HCH	0,94 (1,20)	HCM	7,35 (9,42)
	Cerne	67	HCEH	0,10 (0,15)	HCEM	1,87 (2,79)
	Folhas	70	HFH	0,82 (1,17)	HFM	15,31 (21,87)

F = *Guatteropsis friesiana*; B = *Guatteropsis blepharophylla*; H = *Guatteropsis hispida*; H = Extrato Hexânico; e M = Extrato Metanólico.

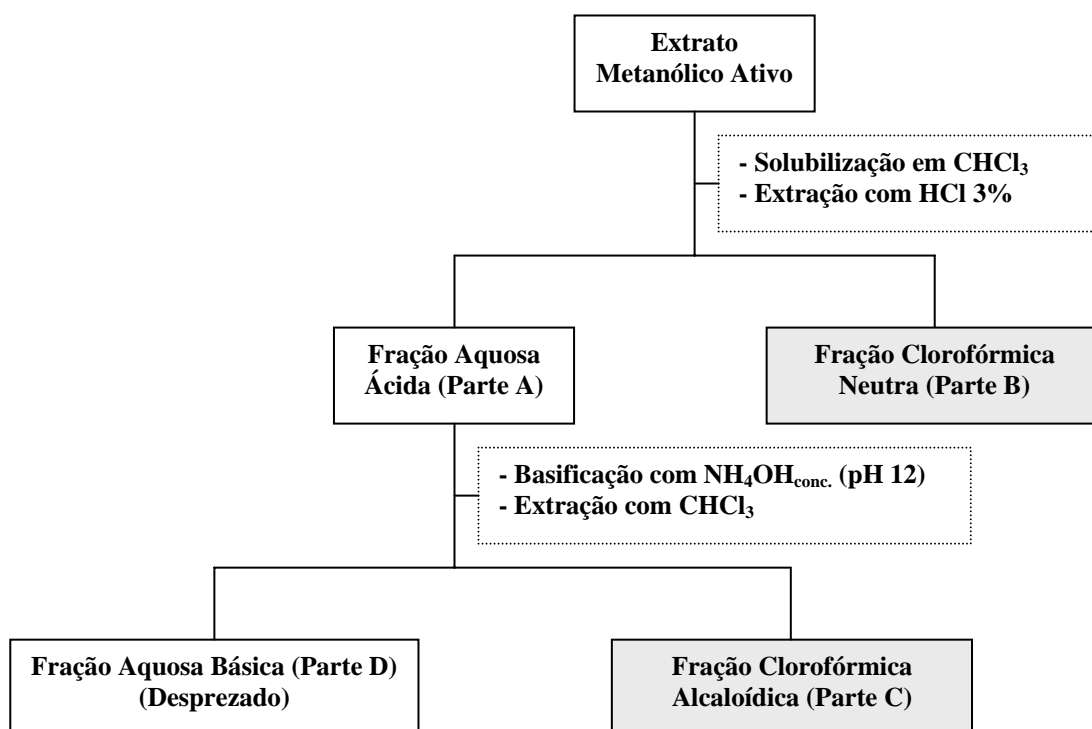
4.5. EXTRAÇÃO DAS BASES (ALCALÓIDES) PRESENTES NOS EXTRATOS METANÓLICOS ATIVOS

Pela análise cromatográfica por CCDA dos extratos metanólicos ativos em diferentes sistemas de solvente observou-se a presença de alcalóides, através da utilização do reagente de Dragendorff (indicativo de alcalóides). Baseado neste indício, os extratos metanólicos bioativos foram submetidos à extração ácido-base (COSTA *et al.*, 2006). Os extratos foram solubilizados em 200-300 mL de CHCl_3 dependendo da massa obtida, e extraídos sucessivamente com solução de ácido clorídrico 3% v/v (HCl), obtendo-se duas frações: a fração aquosa ácida (Parte A) e a fração clorofórmica neutra (Parte B). A fração aquosa ácida (Parte A) foi basificada com hidróxido de amônio concentrado (NH_4OH) até pH 12 e extraída com CHCl_3 sucessivamente levando a duas novas frações: a fração clorofórmica alcaloídica (Parte C) e a fração aquosa básica (Parte D) que foi desprezada (ESQUEMA 2, TABELA 4). As frações clorofórmicas neutra (Parte B) e alcaloídica (Parte C) foram submetidas a testes de atividades biológicas (ver TABELAS 62,63 e 65).

TABELA 4. Rendimento da extração ácido-base dos extratos metanólicos bioativos

Espécie	Extrato Metanólico (M)	Massa (g)	Rendimento em g (%)			
			Fração CHCl_3 Alcaloídica (A)		Fração CHCl_3 Neutra (N)	
<i>Guatteriaopsis friesiana</i> (F)	FCM	250	FCMA	5,07 (2,02)	FCMN	50,53 (20,21)
	FCEM	75	FCEMA	1,20 (1,60)	FCEMN	5,78 (7,71)
	FFM	210	FFMA	6,50 (3,09)	FFMN	30,00 (14,28)
<i>Guatteriaopsis blepharophylla</i> (B)	BCM	210	BCMA	1,18 (0,56)	BCMN	5,24 (2,49)
	BCEM	95	BCEMA	1,27 (1,33)	BCEMN	10,7 (5,09)

F = *Guatteriaopsis friesiana*; B = *Guatteriaopsis blepharophylla*; M = Extrato Metanólico; A = Fração Alcaloídica; e N = Fração Neutra.



ESQUEMA 2. Metodologia para extração dos alcalóides presentes nos extratos metanólicos bioativos.

4.6. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DOS EXTRATOS HEXÂNICOS BIOATIVOS

4.6.1. *GUATTERIOPSIS FRIESIANA*

4.6.1.1. FCH

Uma parte de FCH (4,0 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma coluna cromatográfica (CC, altura x ϕ = 75 x 2,7 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 80,0 g), eluída com EP, CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 86 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_{fs} (TABELA 5).

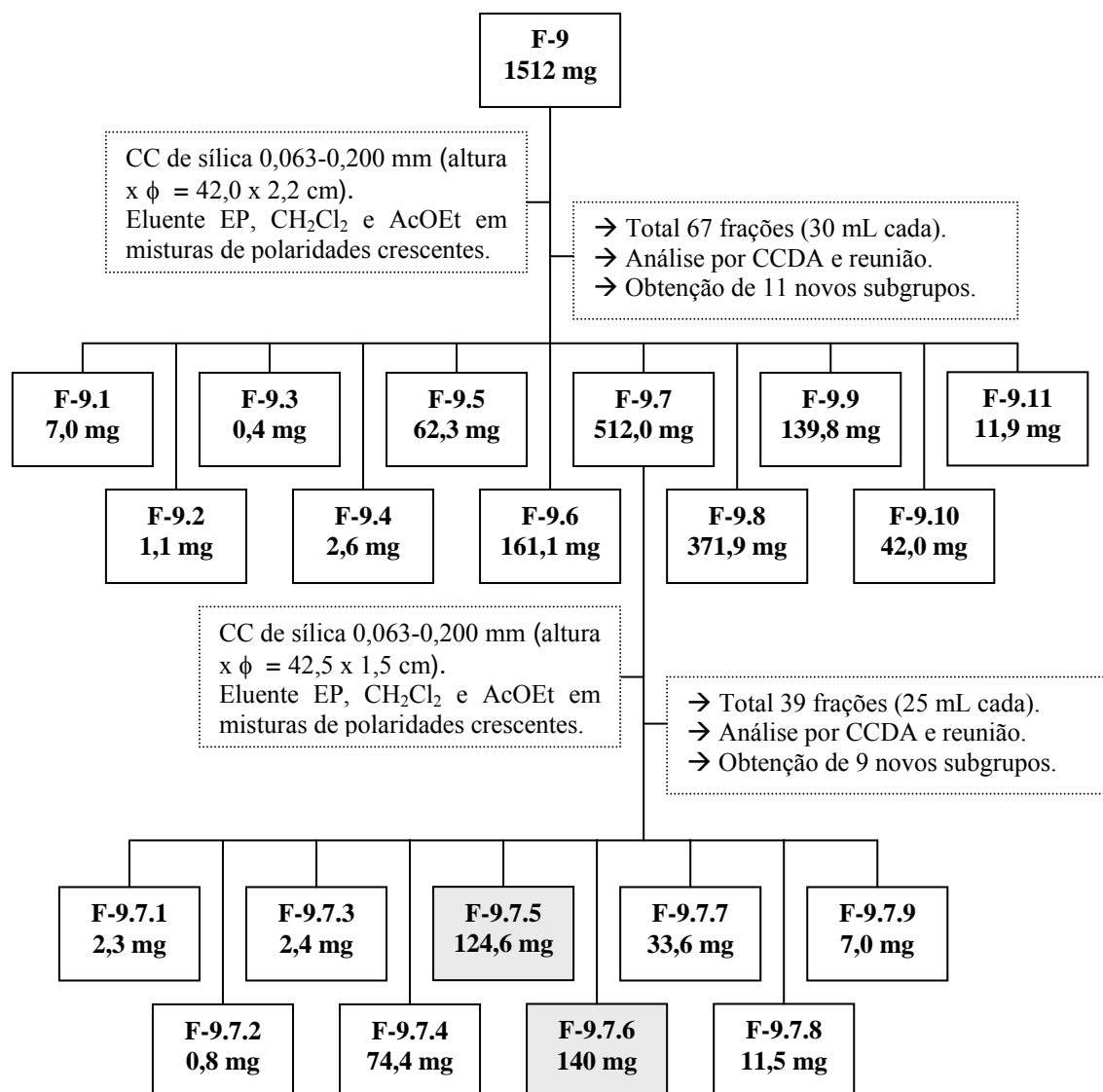
TABELA 5. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico da casca de *G. friesiana* (FCH)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-3	4,1		
2	4-8	17,9		
3	9-12	11,4		

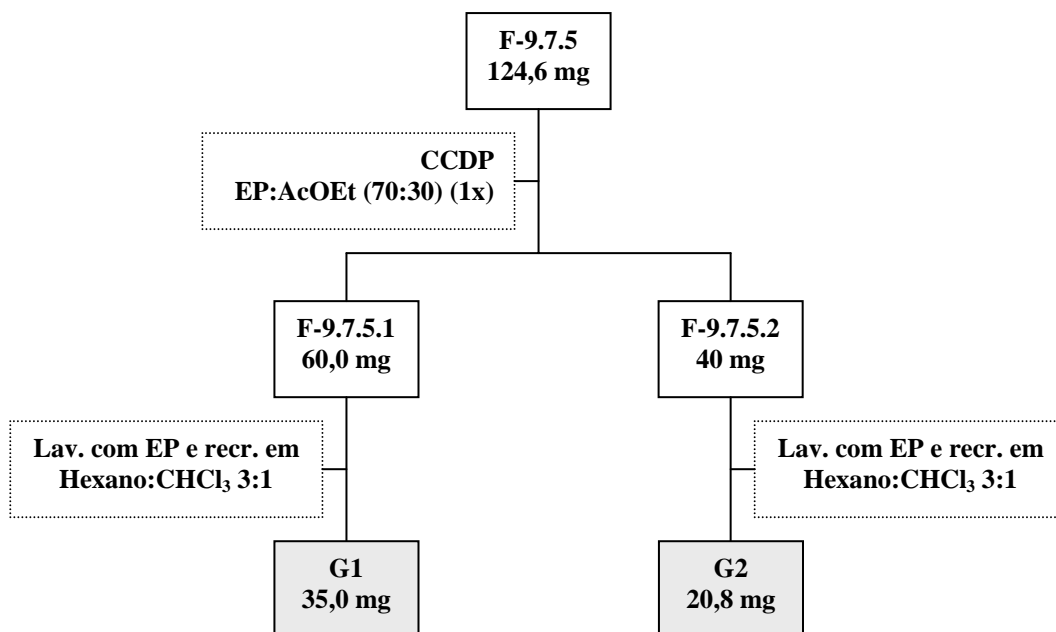
4	13-14	5,9		
5	15-20	156,7		
6	21-22	17,1		
7	23-25	26,3		
8	26-31	121,5		
9	32-38	1512	G1	35,0
			G2	120,9
10	39-40	326,2		
11	41-44	620,1	G3	25,0
			G4	10,0
			G5	12,0
			G6	3,0
12	45-46	109,7		
13	47-48	127,9		
14	49-52	152,7		
15	53-61	133,0		
16	62-63	12,9		
17	64-71	96,9		
18	72-76	207,9		
19	77-80	230,8		
20	81-86	54,3		

4.6.1.1.1. ESTUDO DE F-9

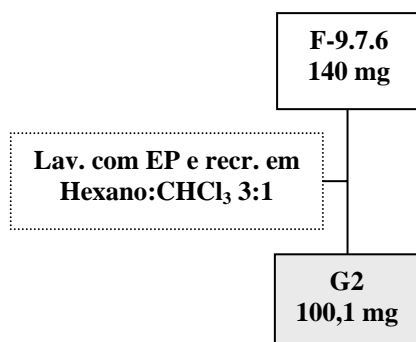
Nos ESQUEMAS 3, 4 e 5 é apresentado o resultado do estudo de F-9 (1512 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G1** e **G2**.



ESQUEMA 3. Estudo de F-9.



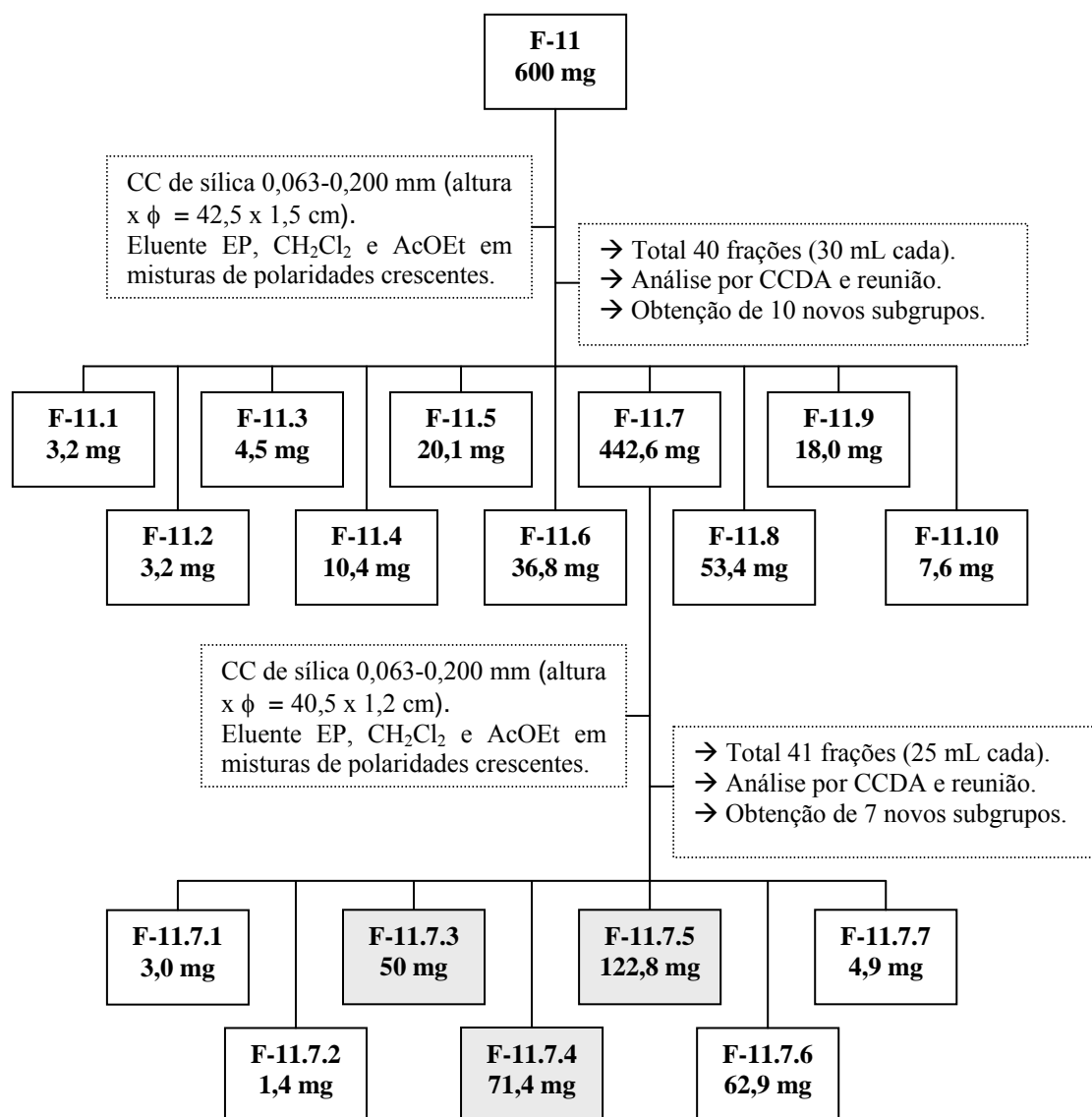
ESQUEMA 4. Isolamento de **G1** e **G2**.



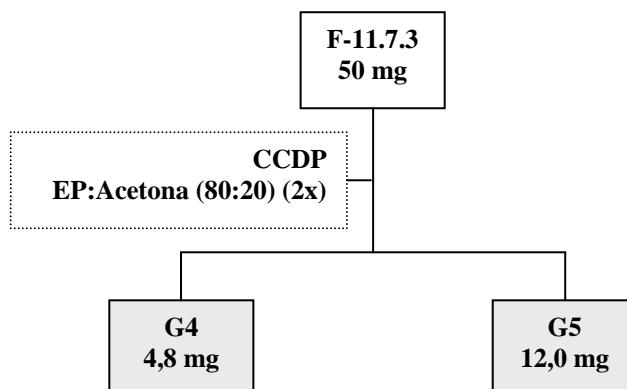
ESQUEMA 5. Isolamento de **G2**.

4.6.1.1.2. ESTUDO DE F-11

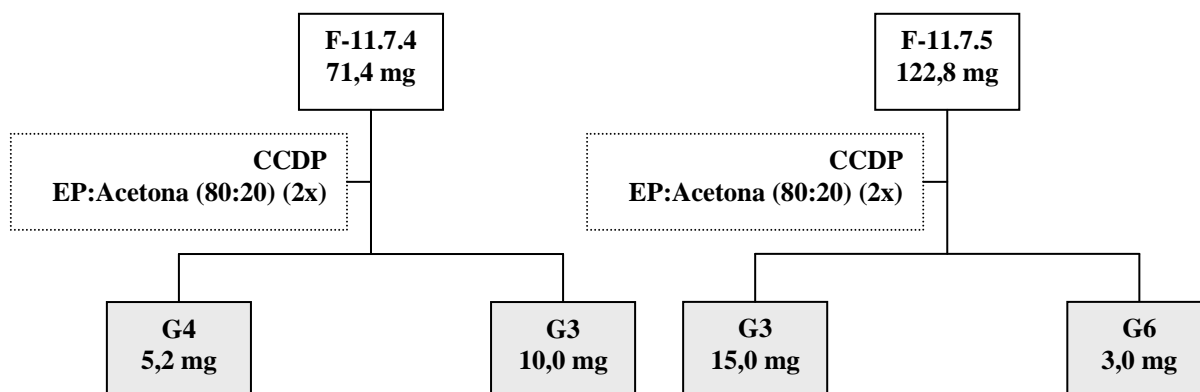
Nos ESQUEMAS 6, 7, 8 e 9 é apresentado o resultado do estudo de F-11 (600 mg), o qual resultou no isolamento de quatro compostos codificados como **G3**, **G4**, **G5** e **G6**.



ESQUEMA 6. Estudo de F-11.



ESQUEMA 7. Isolamento de G4 e G5.

ESQUEMA 8. Isolamento de **G4** e **G3**.ESQUEMA 9. Isolamento de **G3** e **G6**.

4.6.1.2. FCEH

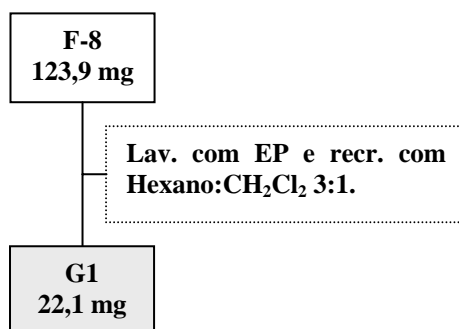
Uma parte de FCEH (1,0 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 42,0 x 2,2 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 20,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 87 frações de 25 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_{fs} (TABELA 6).

TABELA 6. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico do cerne de *G. friesiana* (FCEH)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-2	34,6		
2	3-4	16,2		
3	5	5,6		
4	6-7	4,2		
5	8-11	66,4		
6	12-15	9,1		
7	16-17	3,0		
8	18-30	123,9	G1	22,1
9	31-34	29,8	G2	4,9
10	35-38	137,9		
11	39-44	159,4		
12	45-50	51,0		
13	51-70	48,0		
14	71-74	26,0		
15	75-76	5,2		
16	78-79	30,6		
17	80-81	31,8		
18	80-87	33,8		

4.6.1.2.1. ESTUDO DE F-8

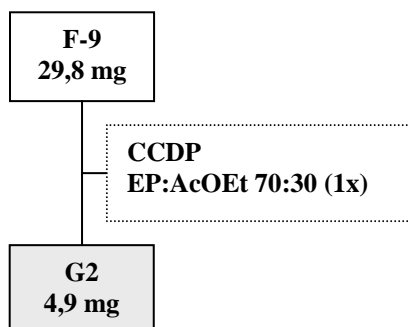
No ESQUEMA 10 é apresentado o resultado do estudo de F-8 (123,9 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G1**.



ESQUEMA 10. Isolamento de **G1**.

4.6.1.2.2. ESTUDO DE F-9

No ESQUEMA 11 é apresentado o resultado do estudo de F-9 (29,8 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G2**.



ESQUEMA 11. Isolamento de **G2**.

4.6.1.3. FFH

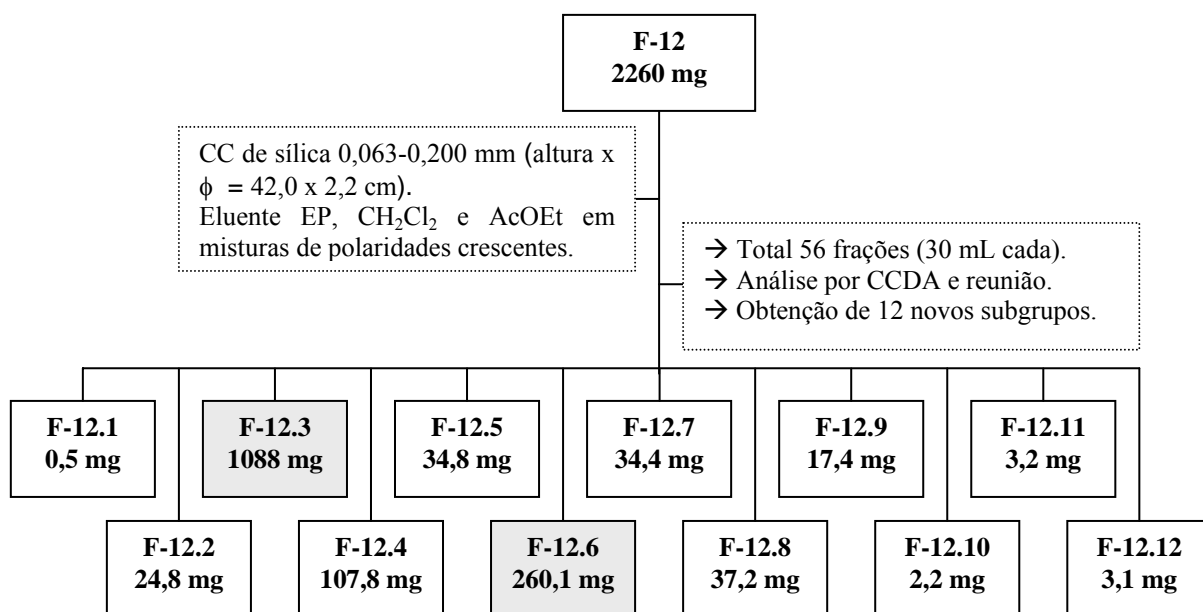
Uma parte de FFH (5,5 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 75 x 2,7 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 110,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 110 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e as que apresentaram os mesmos R_fs foram reunidas (TABELA 7).

TABELA 7. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico das folhas de *G. friesiana* (FFH)

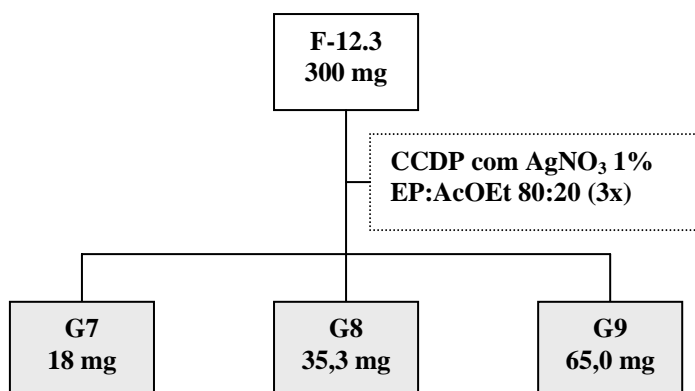
Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1	0,2		
2	2	100		
3	3-4	14,6		
4	5-8	26		
5	9	7,4		
6	10-13	53,1		
7	14-17	33,4		
8	18-20	14,9		
9	21	5,5		
10	22-29	145,1		
11	30	830,6		
12	31-33	2260	G7	18,0
			G8	35,3
			G9	65,0
			G1	5,0
			G2	43,1
13	34-40	381,8		
14	41-43	247,9	G3	22,0
			G4	7,0
			G5	9,0
			G6	2,5
15	44-48	332,0	G10	25,8
16	49-53	139,0		
17	54-64	264,1		
18	65-72	204,8		
19	73-79	125,9		
20	80-83	49,9		
21	84-91	111,1		
22	92-97	297,4		
23	98-105	103,1		
24	106-110	128,3		

4.6.1.3.1. ESTUDO DE F-12

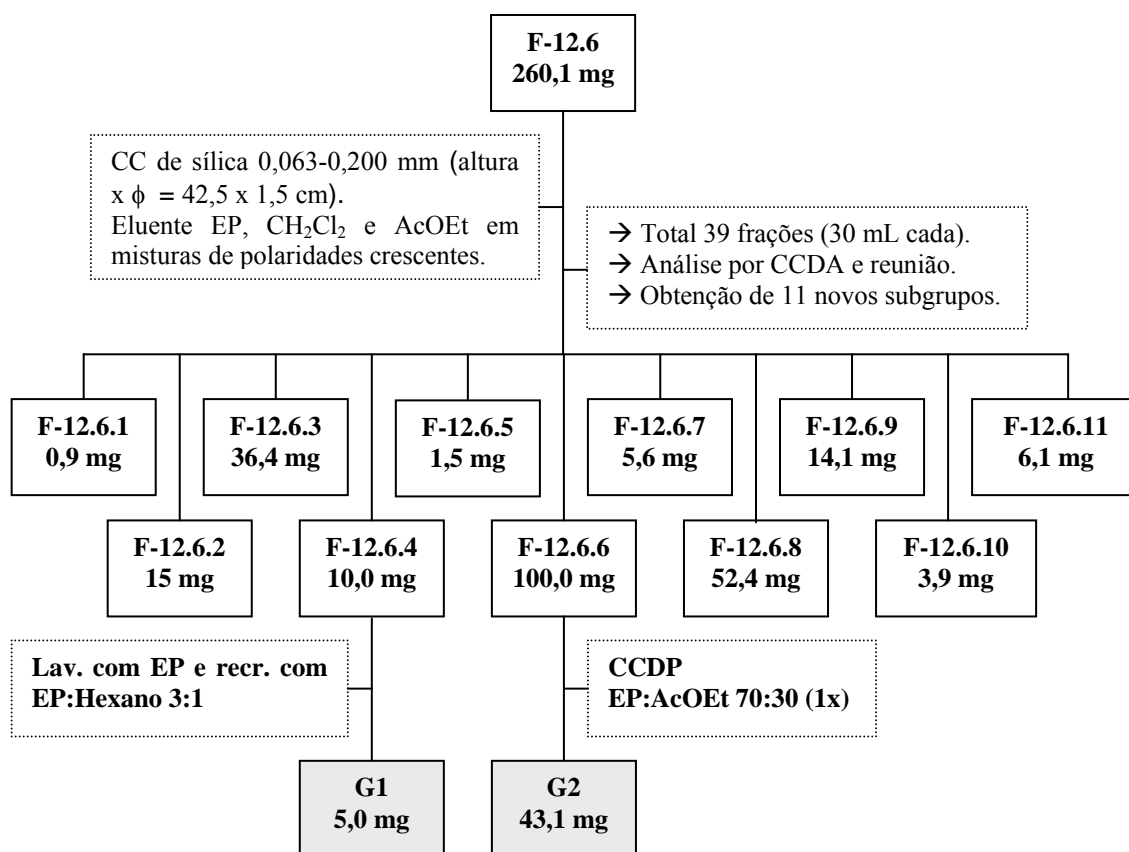
Nos ESQUEMAS a seguir (12, 13 e 14) é apresentado o estudo de F-12 (2260 mg), o qual levou ao isolamento de cinco substâncias codificadas como **G7**, **G8**, **G9**, **G1** e **G2**.



ESQUEMA 12. Estudo de F-12.



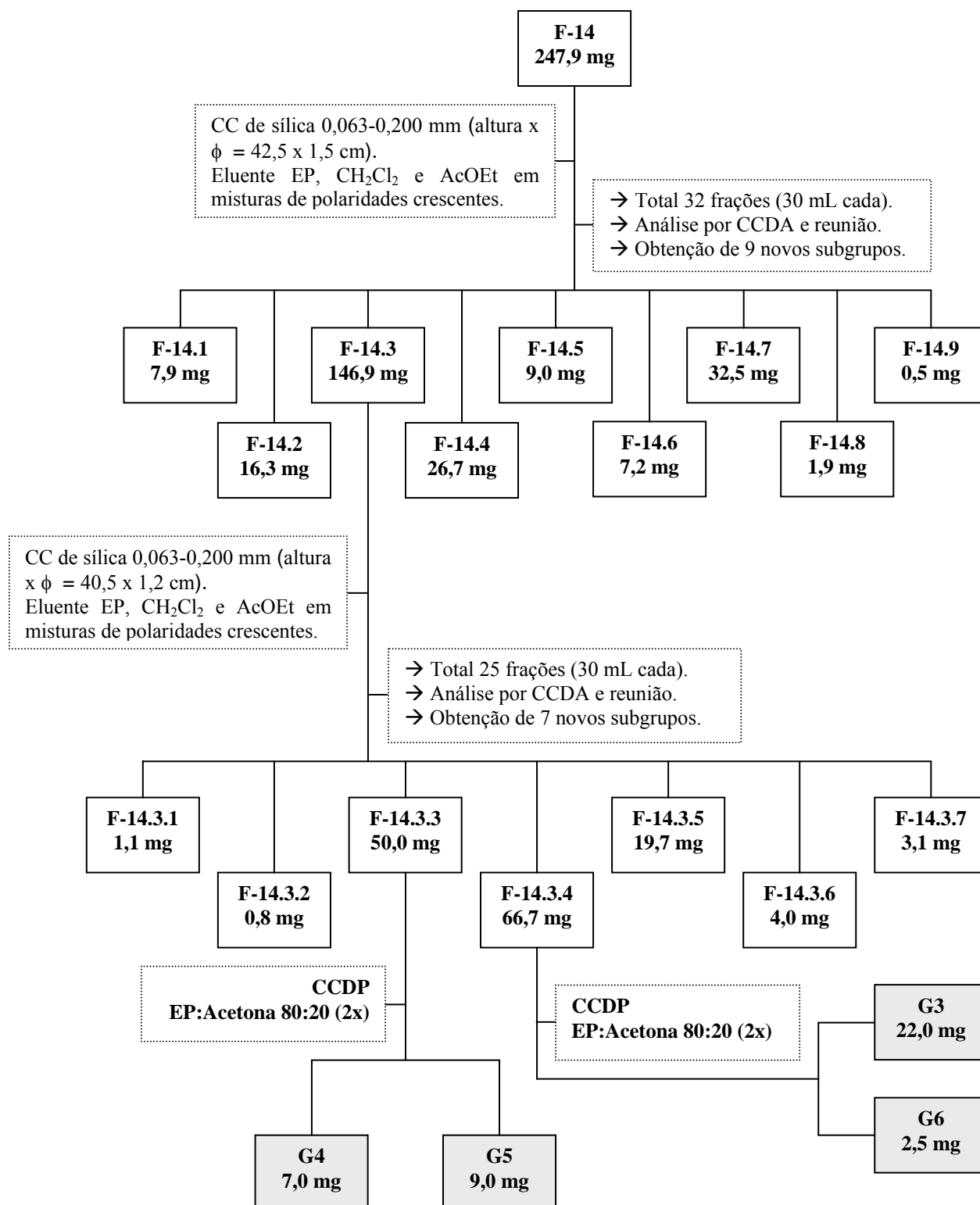
ESQUEMA 13. Isolamento de G7, G8 e G9.



ESQUEMA 14. Isolamento de G1 e G2.

4.6.1.3.2. ESTUDO DE F-14

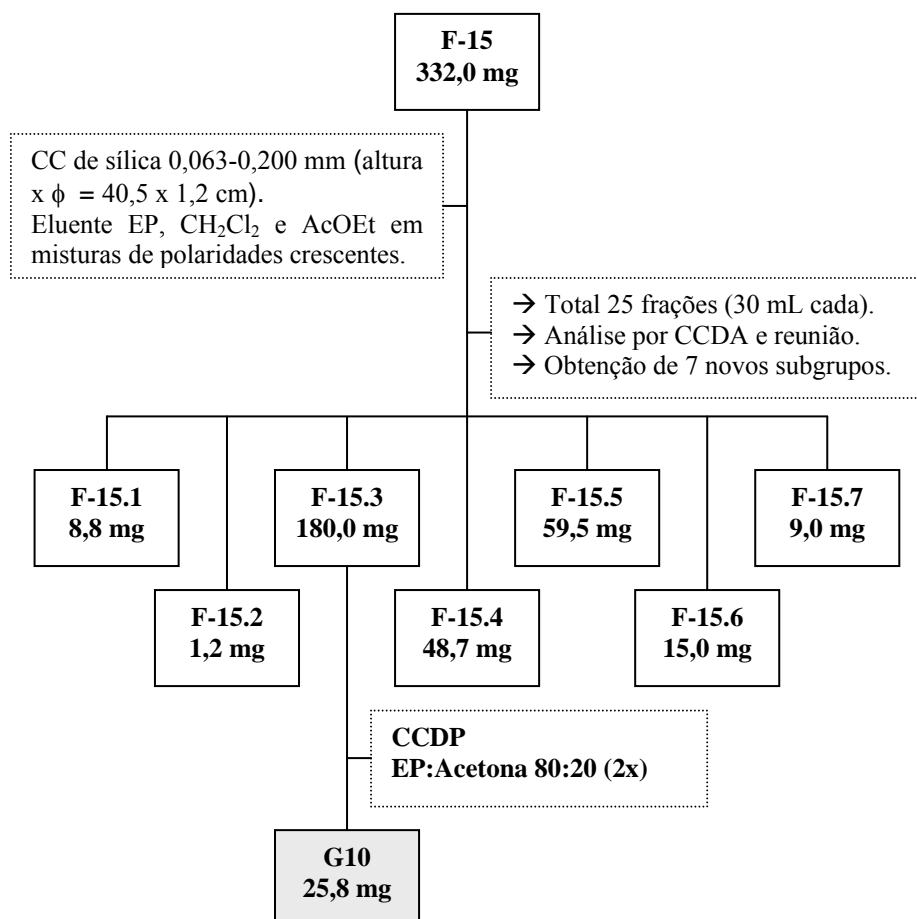
No ESQUEMA 15 é apresentado o estudo de F-14 (247,9 mg), o qual levou ao isolamento de quatro substâncias codificadas como **G3**, **G4**, **G5** e **G6**.



ESQUEMA 15. Isolamento de G3, G4, G5 e G6.

4.6.1.3.3. ESTUDO DE F-15

No ESQUEMA 16 é apresentado o estudo de F-15 (332,0 mg), o qual levou ao isolamento de uma substância codificada como **G10**.



ESQUEMA 16. Isolamento de **G10**.

4.6.2. GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA

4.6.2.1. BCH

Uma parte de BCH (4,0 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 75 x 2,7 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 80,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 295 frações de 20 mL

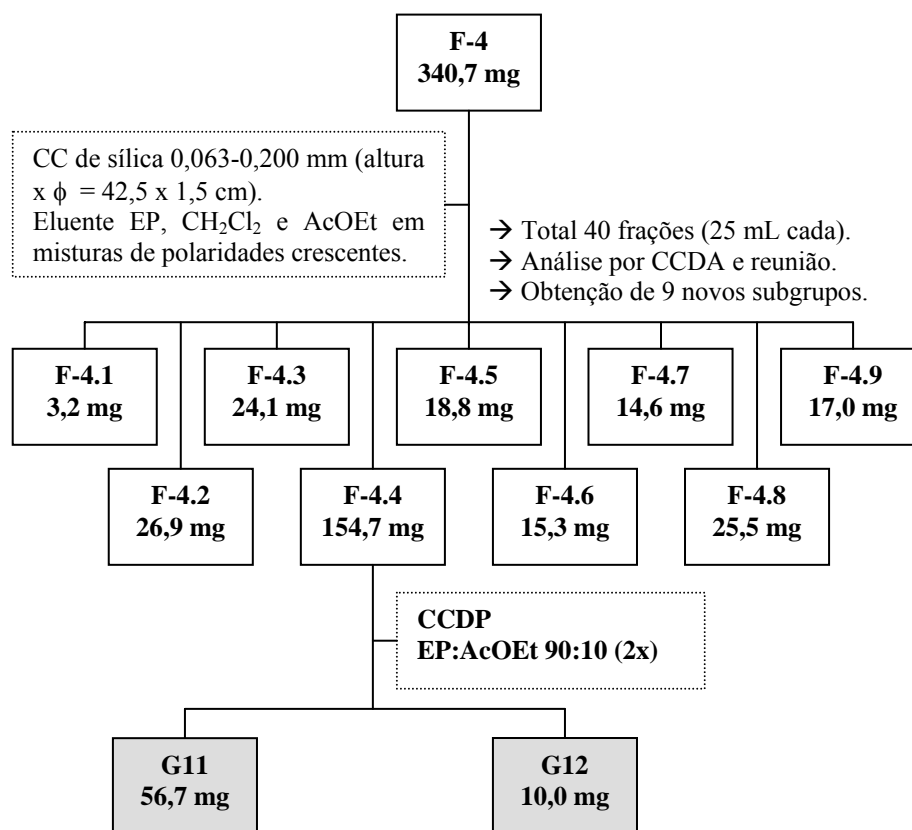
cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_{fs} (TABELA 8).

TABELA 8. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico da casca de *G. blepharophylla* (BCH)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-6	117,9		
2	9-16	367,2		
3	17-18	28,7		
4	19-43	340,7	G11 G12	56,7 10,0
5	44-55	187,2	G12 G13	3,0 16,8
6	57-65	602,7	G1	36,1
7	66-71	284,8		
8	72-74	119,6		
9	75-80	251,8		
10	81-86	240,6		
11	87-95	208,7		
12	96-105	51,5		
13	106-112	59,1		
14	113-121	57,5		
15	122-127	46,8		
16	128-140	87,3		
17	141-166	84,5		
18	167-187	52,6		
19	188-193	98,1		
20	194-213	53,7		
21	214-228	80,9		
22	229-246	32,8		
23	247-272	80,2		
24	273-295	46,7		

4.6.2.1.1. ESTUDO DE F-4

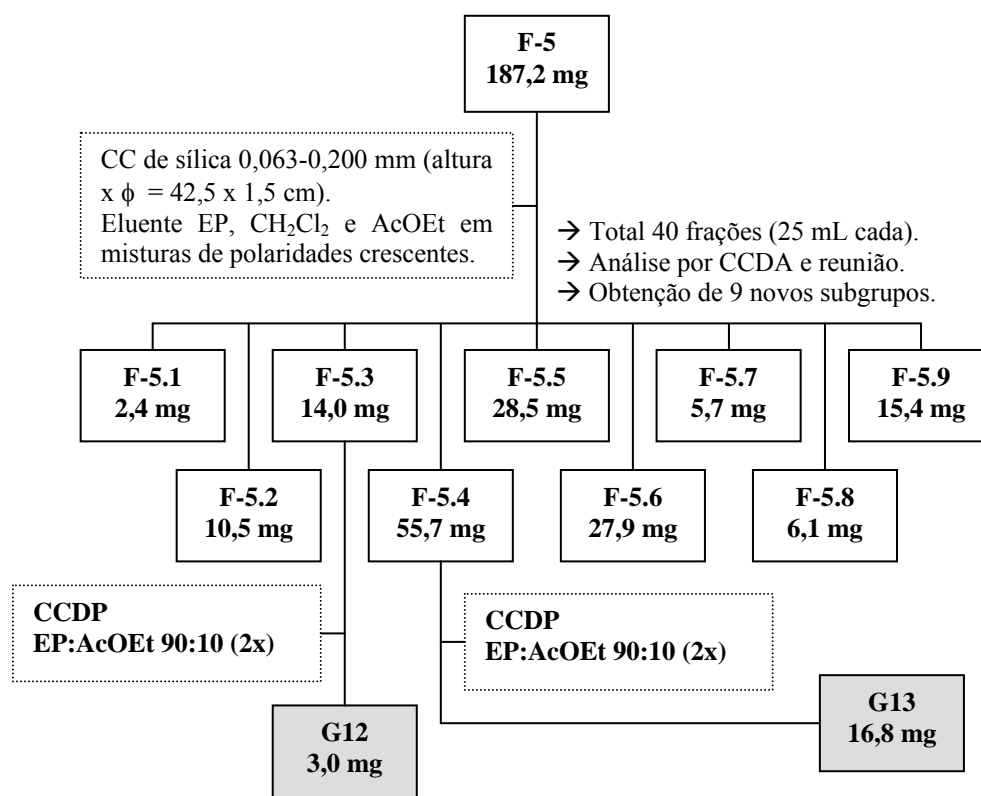
No ESQUEMA 17 é apresentado o resultado do estudo de F-4 (340,7 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G11** e **G12**.



ESQUEMA 17. Isolamento de **G11** e **G12**.

4.6.2.1.2. ESTUDO DE F-5

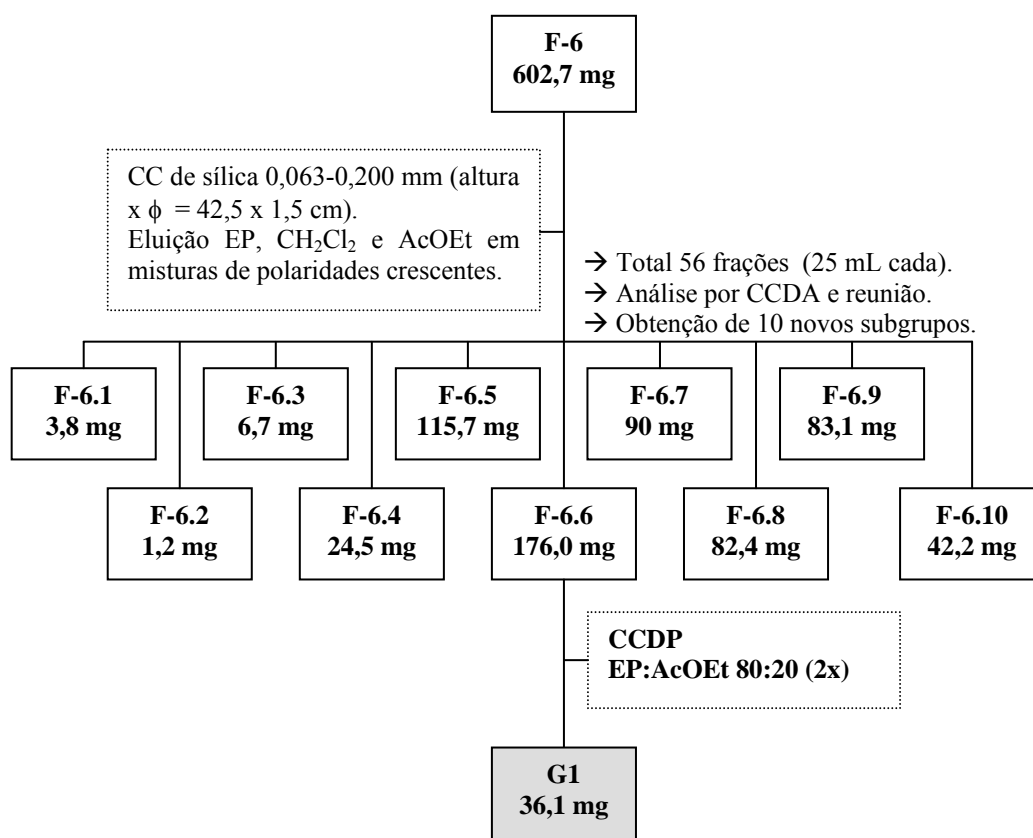
No ESQUEMA 18 é apresentado o resultado do estudo de F-5 (187,2 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G12** e **G13**.



ESQUEMA 18. Isolamento de **G12** e **G13**.

4.6.2.1.3. ESTUDO DE **F-6**

No ESQUEMA 19 é apresentado o resultado do estudo de **F-6** (602,7 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G1**.



ESQUEMA 19. Isolamento de G1.

4.6.2.2. BCEH

Uma parte de BCEH (4,0 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 75 x 2,7 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 80,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 91 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_{fs} (TABELA 9).

TABELA 9. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do extrato hexânico do cerne de *G. blepharophylla* (BCEH)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1	40,9		
2	2	67,8		
3	3	82,1		
4	4	16,8		
5	5	56,6		
6	6	14,6		
7	7-8	49,8		
8	9-13	40,0		
9	14-17	52,9		
10	18	9,8		

11	19-20	34,8
12	21	10,8
13	22-25	1063,2
14	26-29	519,3
15	30-33	313,4
16	34-39	260,4
17	40-45	190,0
18	46-49	160,0
19	50-52	80,6
20	53-54	36,4
21	55-61	92,9
22	62-69	91,5
23	70-75	396,0
24	76-78	49,7
25	79-84	52,5
26	85-91	162,0

Posteriores análises por CCDA em diferentes sistemas de solventes, bem como análises de RMN de ^1H e ^{13}C dos grupos de frações revelaram grande quantidade de ácidos graxos. Algumas frações foram trabalhadas, porém não foi possível o isolamento de nenhuma substância apenas misturas complexas de ácidos graxos.

4.7. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DAS FRAÇÕES ALCALOÍDICAS PROVENIENTES DOS EXTRATOS METANÓLICOS BIOATIVOS

4.7.1. *GUATTERIOPSIS FRIESIANA*

4.7.1.1. FCMA

Uma parte da fração alcaloídica de FCMA (4,8 g), foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 57,0 x 2,6 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 96,0 g) previamente tratada com solução de NaHCO_3 10%, eluída com EP, CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 133 frações de 30 mL cada, as quais foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_{fs} (TABELA 10).

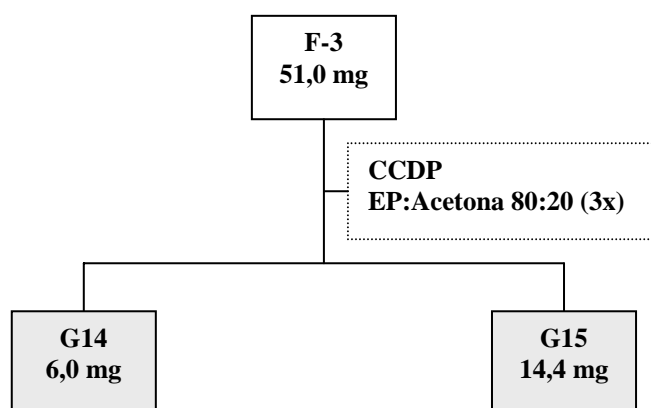
TABELA 10. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica da casca de *G. friesiana* (FCMA)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-4	17,1		
2	5	10,4		
3	6-7	51,0	G14	6,0

4	8-12	210,2	G15	14,4
			G14	6,7
			G15	6,7
			G16	4,8
			G17	6,6
			G18	4,3
			G19	6,6
			G20	18,0
5	13-24	343,1	G21	23,9
			G22	34,2
6	25-38	683,6	G21	62,9
			G22	15,3
			G23	14,0
			G24	8,8
			G25	6,2
7	39-40	137,8		
8	41-46	329,4	G25	10,0
			G26	13,6
			G27	20,0
			G28	9,2
			G29	10,5
			G30	3,4
			G31	5,4
9	47-51	131,2		
10	52-70	320,1	G28	69,0
			G32	8,3
			G33	15,0
11	71-79	45,5		
12	80-81	275,8		
13	82-91	421,0	G6	15,1
14	92-100	172,3		
15	101-106	367,6	G3	16,5
			G34	57,0
16	107-108	68,1		
17	109-111	72,4		
18	112-116	76,8		
19	117-124	227,3		
20	125-127	85,0		
16	128-133	77,6		

4.7.1.1.1. ESTUDO DE F-3

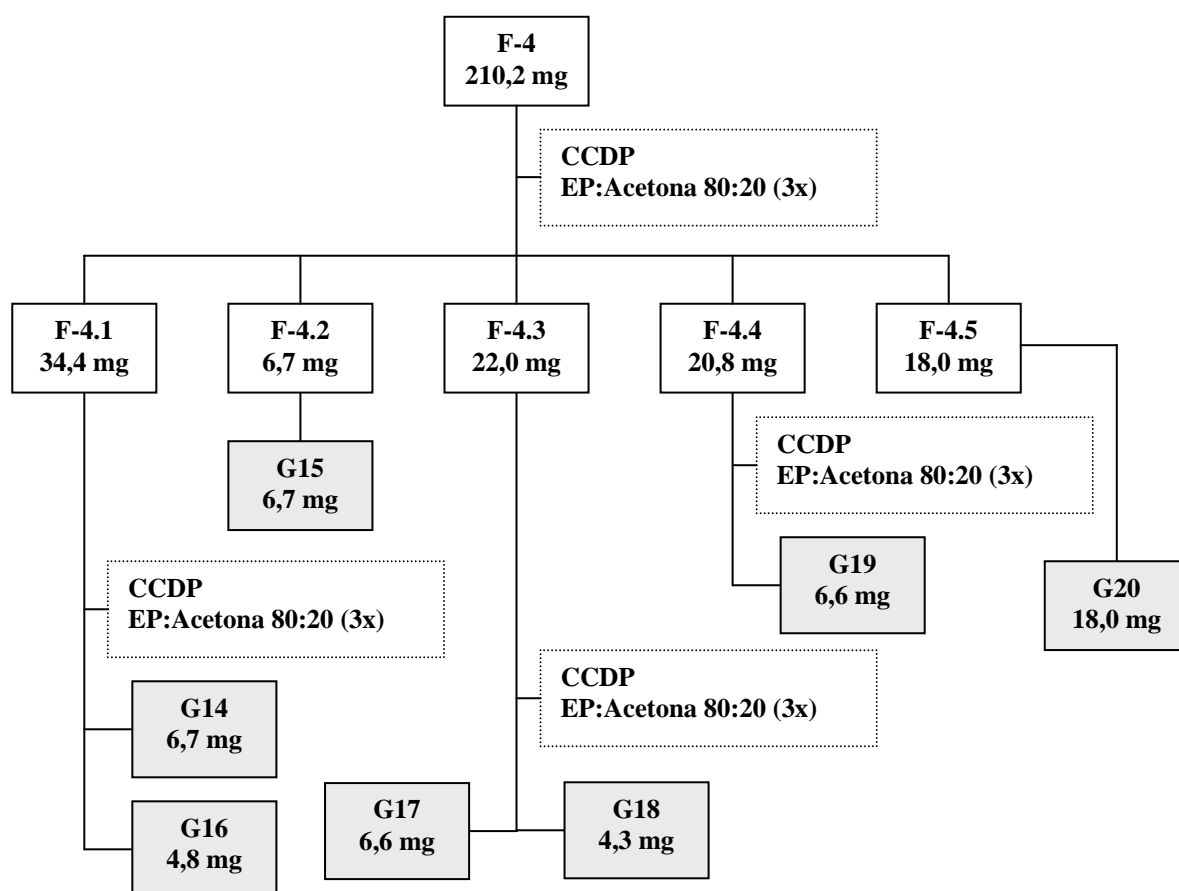
No ESQUEMA 20 é apresentado o resultado do estudo de G-3 (51,0 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G14** e **G15**.



ESQUEMA 20. Isolamento de G14 e G15.

4.7.1.1.2. ESTUDO DE F-4

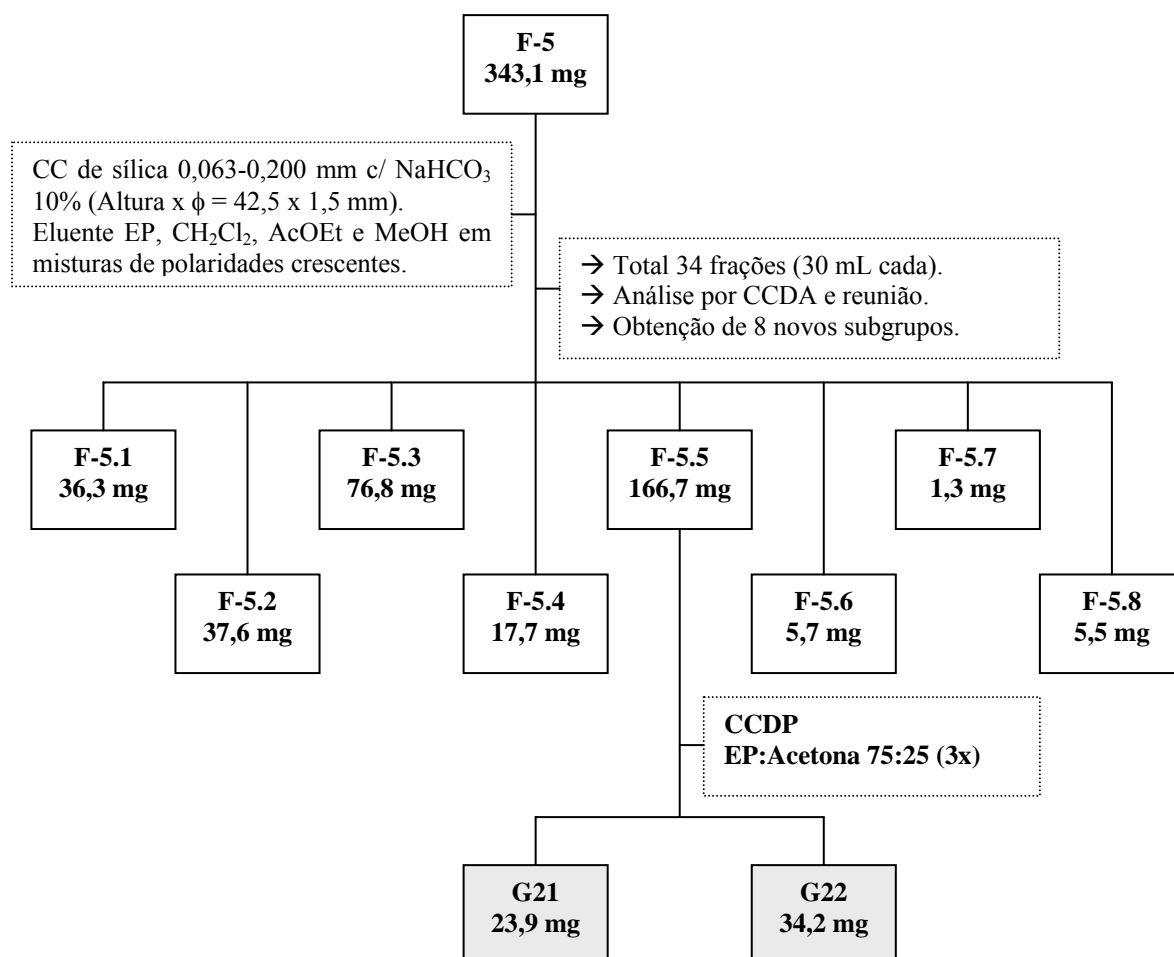
No ESQUEMA 21 é apresentado o resultado do estudo de F-4 (210,2 mg), o qual resultou no isolamento de sete compostos codificados como G14, G15, G16, G17, G18, G19 e G20.



ESQUEMA 21. Isolamento de G14, G15, G16, G17, G18, G19 e G20.

4.7.1.1.3. ESTUDO DE F-5

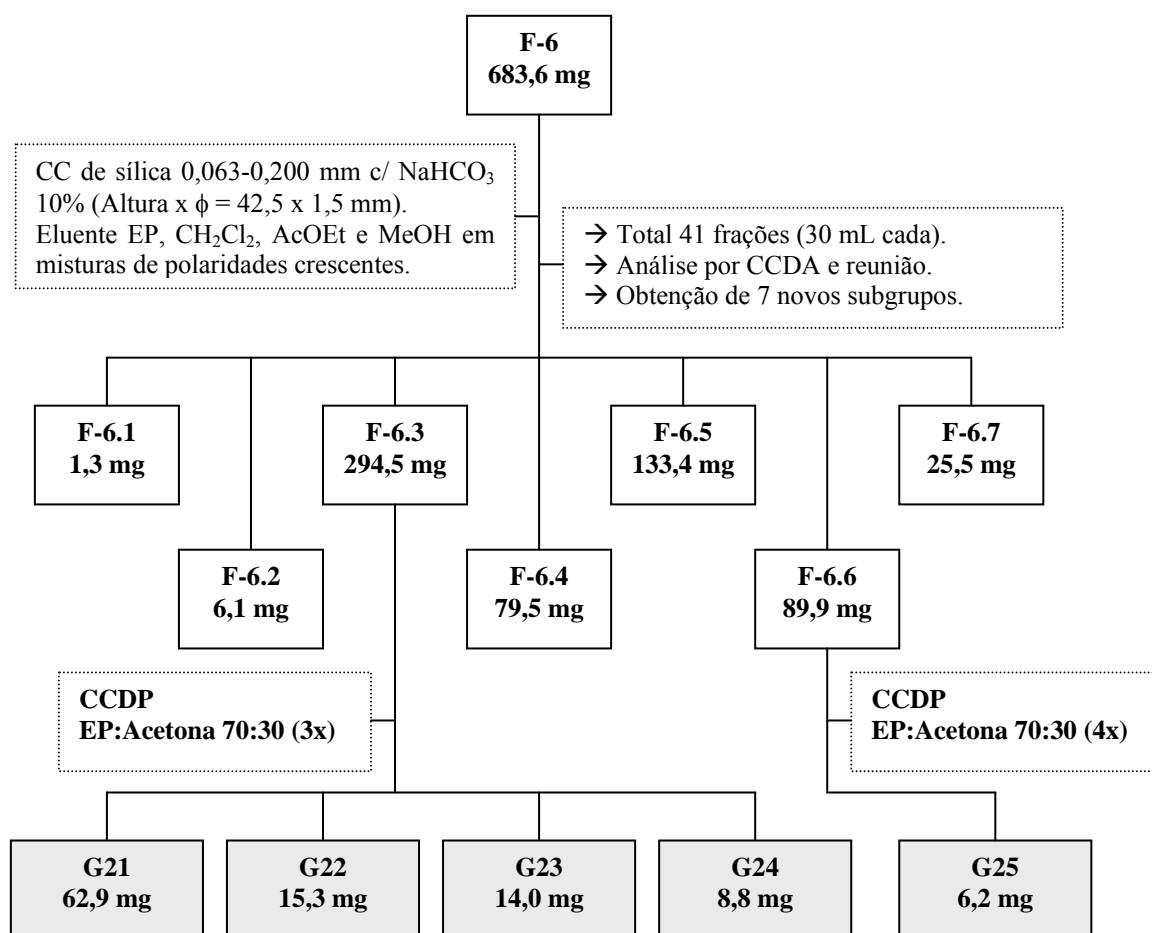
No ESQUEMA 22 é apresentado o resultado do estudo de F-5 (343,1 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G21** e **G22**.



ESQUEMA 22. Isolamento de **G21** e **G22**.

4.7.1.1.4. ESTUDO DE F-6

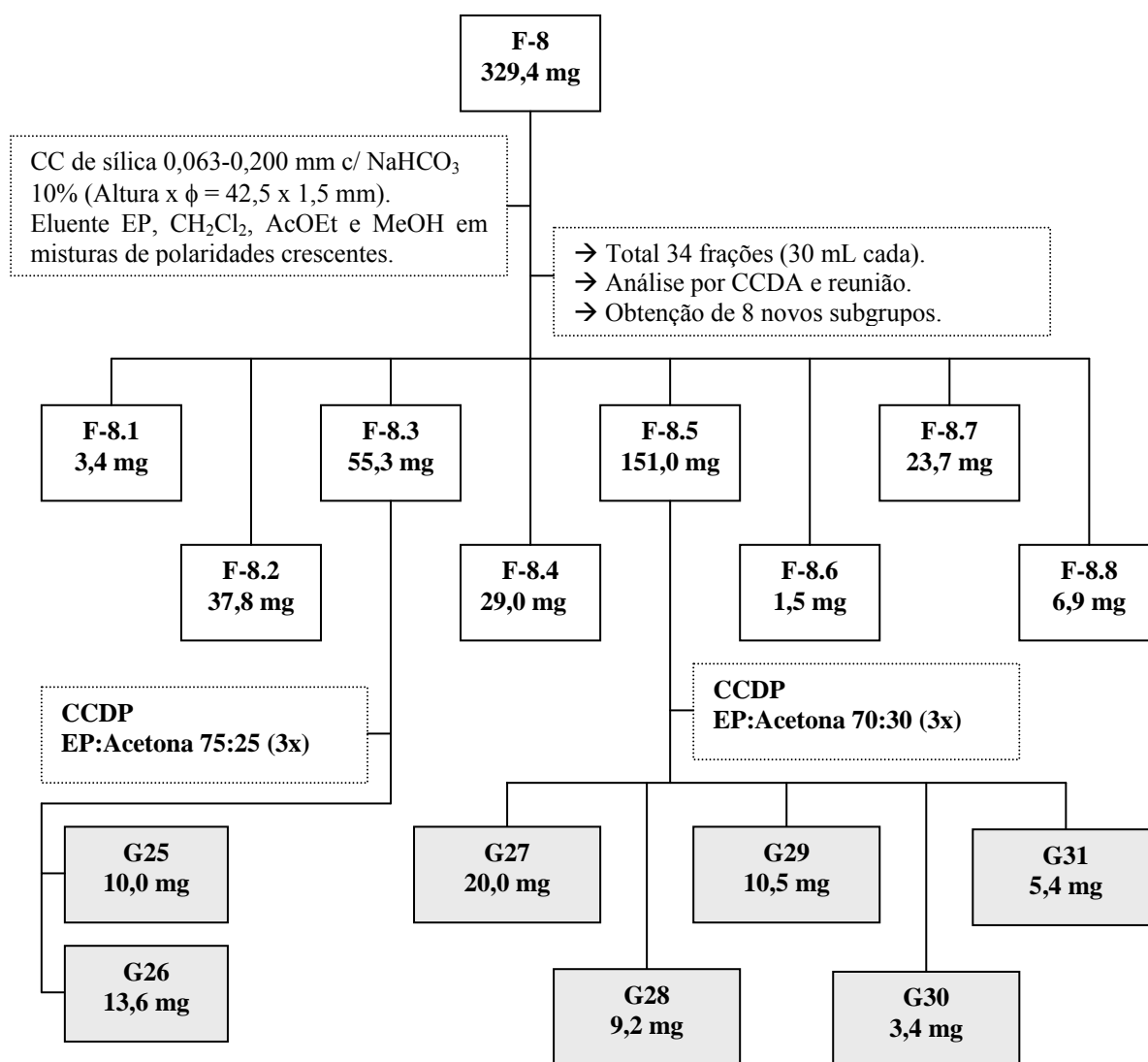
No ESQUEMA 23 é apresentado o resultado do estudo de F-6 (683,6 mg), o qual resultou no isolamento de cinco compostos codificados como **G21**, **G22**, **G23**, **G24** e **G25**.



ESQUEMA 23. Isolamento de G21, G22, G23, G24 e G25.

4.7.1.1.5. ESTUDO DE F-8

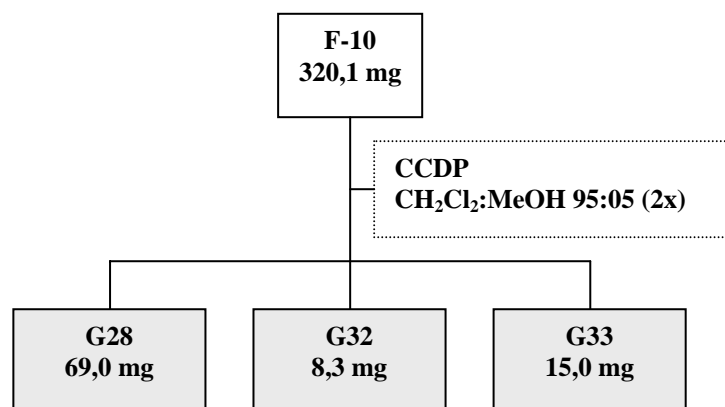
No ESQUEMA 24 é apresentado o resultado do estudo de F-8 (329,4 mg), o qual resultou no isolamento de sete compostos codificados como **G25**, **G26**, **G27**, **G28**, **G29**, **G30** e **G31**.



ESQUEMA 24. Isolamento de **G25**, **G26**, **G27**, **G28**, **G29**, **G30** e **G31**.

4.7.1.1.6. ESTUDO DE F-10

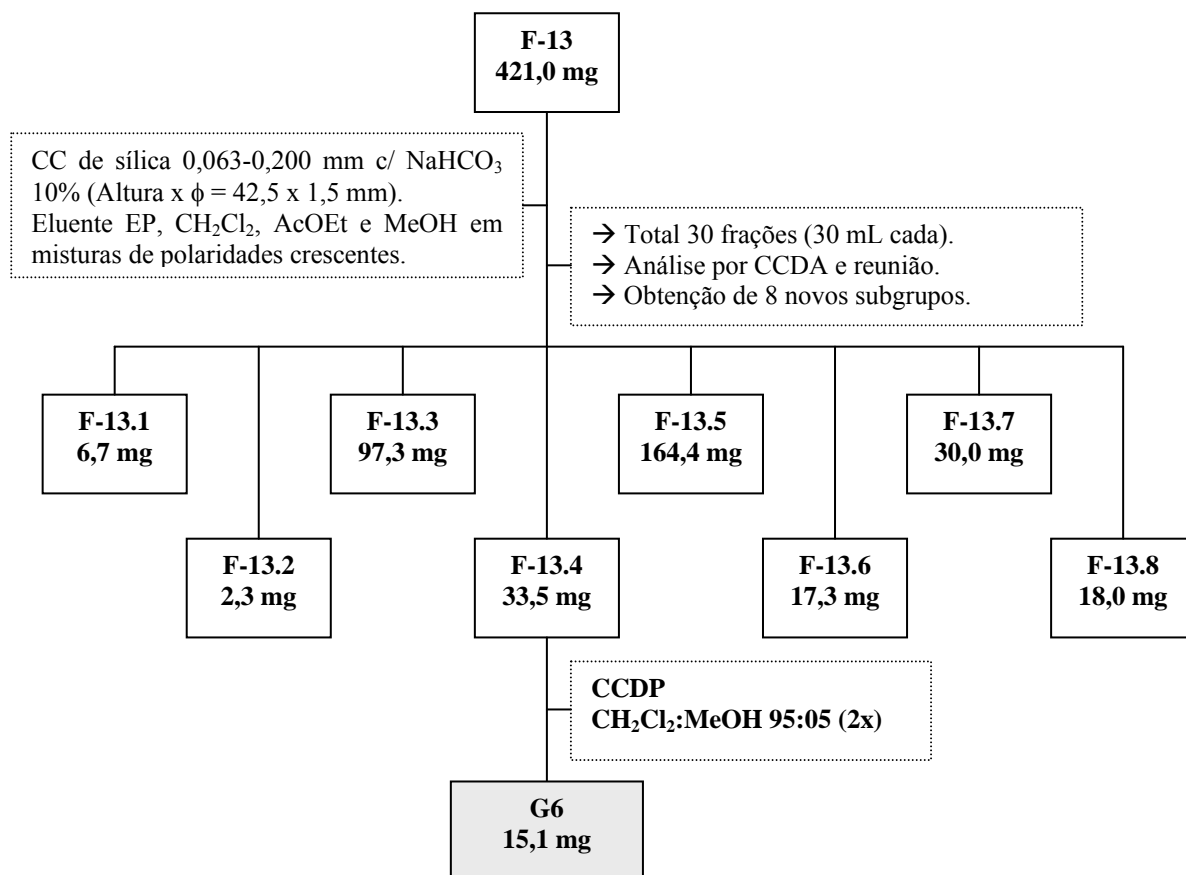
No ESQUEMA 25 é apresentado o resultado do estudo de F-10, o qual resultou no isolamento de três compostos codificados como **G28**, **G32** e **G33**.



ESQUEMA 25. Isolamento de G28, G32 e G33.

4.7.1.1.7. ESTUDO DE F-13

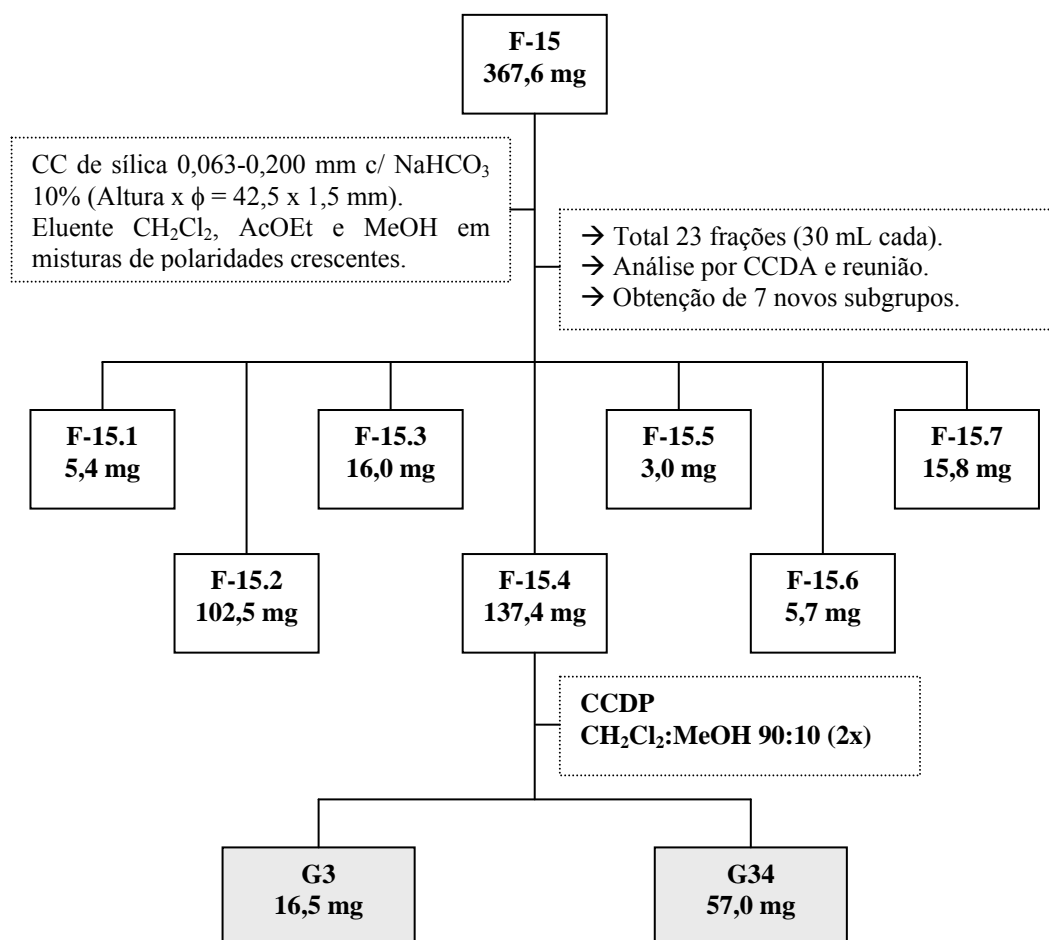
No ESQUEMA 26 é apresentado o resultado do estudo de F-13 (421,0 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G6**.



ESQUEMA 26. Isolamento de G6.

4.7.1.1.8. ESTUDO DE F-15

No ESQUEMA 27 é apresentado o resultado do estudo de F-15 (367,6 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G3** e **G34**.



ESQUEMA 27. Isolamento de G3 e G34.

4.7.1.2. FCEMA

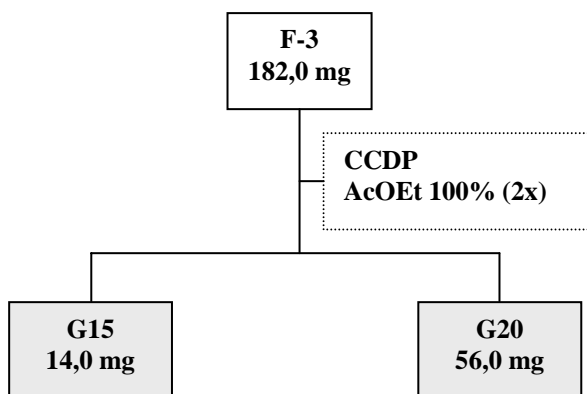
Uma parte desta fração alcaloídica (0,9 g), foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x φ = 42,0 x 2,2 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 20,0) tratada com solução de NaHCO₃ 10%, eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 67 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas em CCDA e as que apresentaram os mesmos R_{fs} foram reunidas (TABELA 11).

TABELA 11. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica do cerne de *G. friesiana* (FCEMA)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-2	4,9		
2	3	3,7		
3	4-14	182,0	G15	14,0
			G20	56,0
4	15-20	92,9	G28	7,0
			G22	22,8
5	21-32	239,0	G22	23,9
			G35	3,2
6	33-39	12,9		
7	40-44	62,0	G36	2,8
8	45-48	27,0		
9	49-51	8,5		
10	52-58	45,2		
11	59-63	40,0		
12	64-67	70,0		

4.7.1.2.1. ESTUDO DE F-3

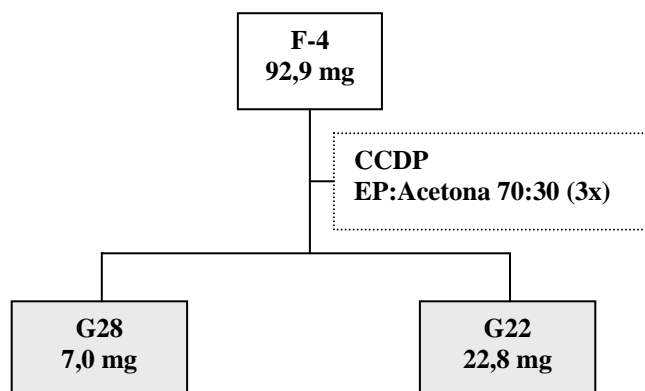
No ESQUEMA 28 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-3 (182,0 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G15** e **G20** (ESQUEMA 1).



ESQUEMA 28. Isolamento de **G15** e **G20**.

4.7.1.2.2. ESTUDO DE F-4

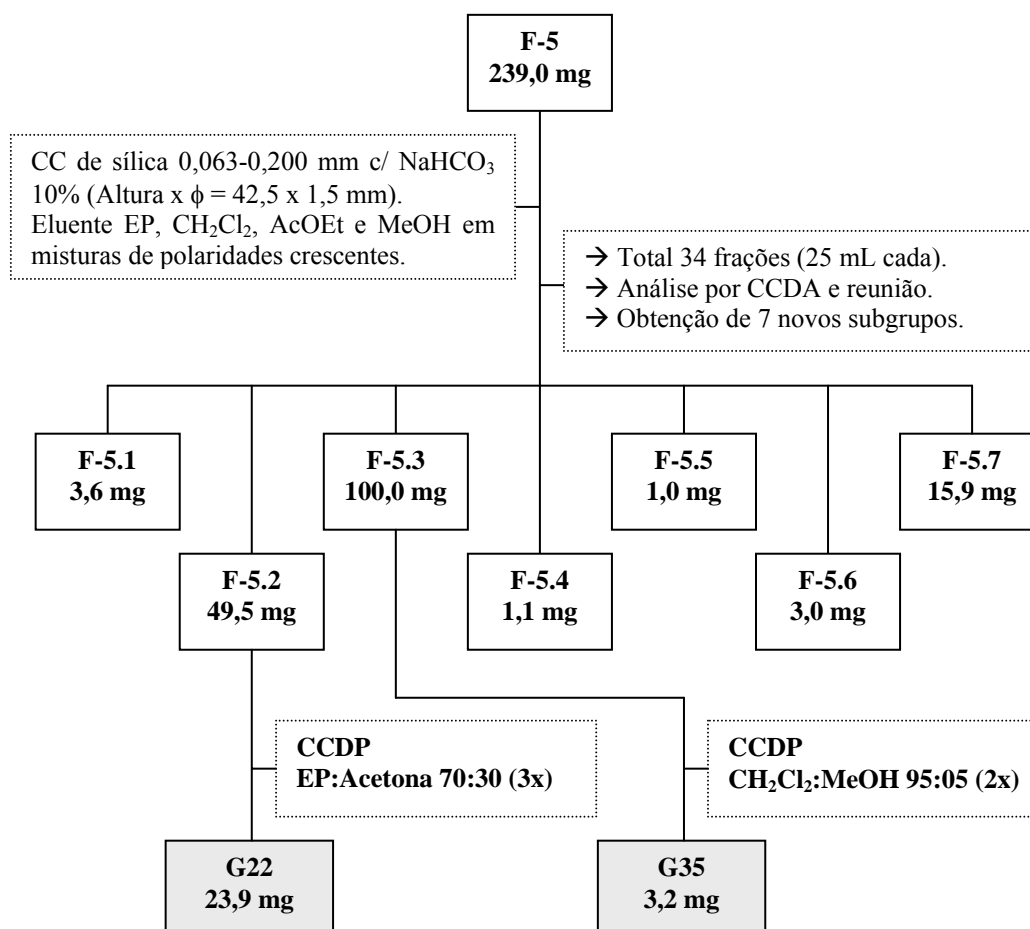
No ESQUEMA 29 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-4 (92,9 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G28** e **G22**.



ESQUEMA 29. Isolamento de G28 e G22.

4.7.1.2.3. ESTUDO DE F-5

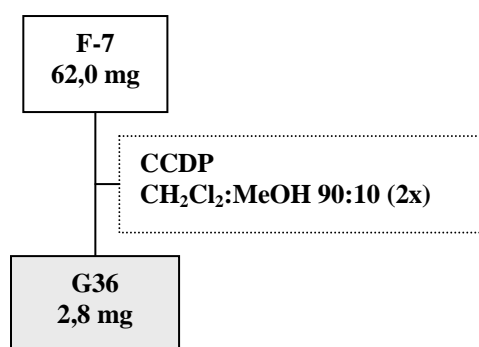
No ESQUEMA 30 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-5 (239,0 mg), o qual levou ao isolamento de dois compostos codificados **G22** e **G35**.



ESQUEMA 30. Isolamento de G22 e G35.

4.7.1.2.4. ESTUDO DE F-7

No ESQUEMA 31 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-7 (62,0 mg), o qual levou ao isolamento de um composto codificado como **G36**.



ESQUEMA 31. Isolamento de **G36**.

4.7.1.3. FFMA

Uma parte então dessa fração alcaloídica (6,0 g), foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 57,0 x 2,6 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 120,0 g) tratada com solução de NaHCO_3 10%, eluída com EP, CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 206 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas em CCDA e as que apresentaram os mesmos R_{fs} foram reunidas (TABELA 12).

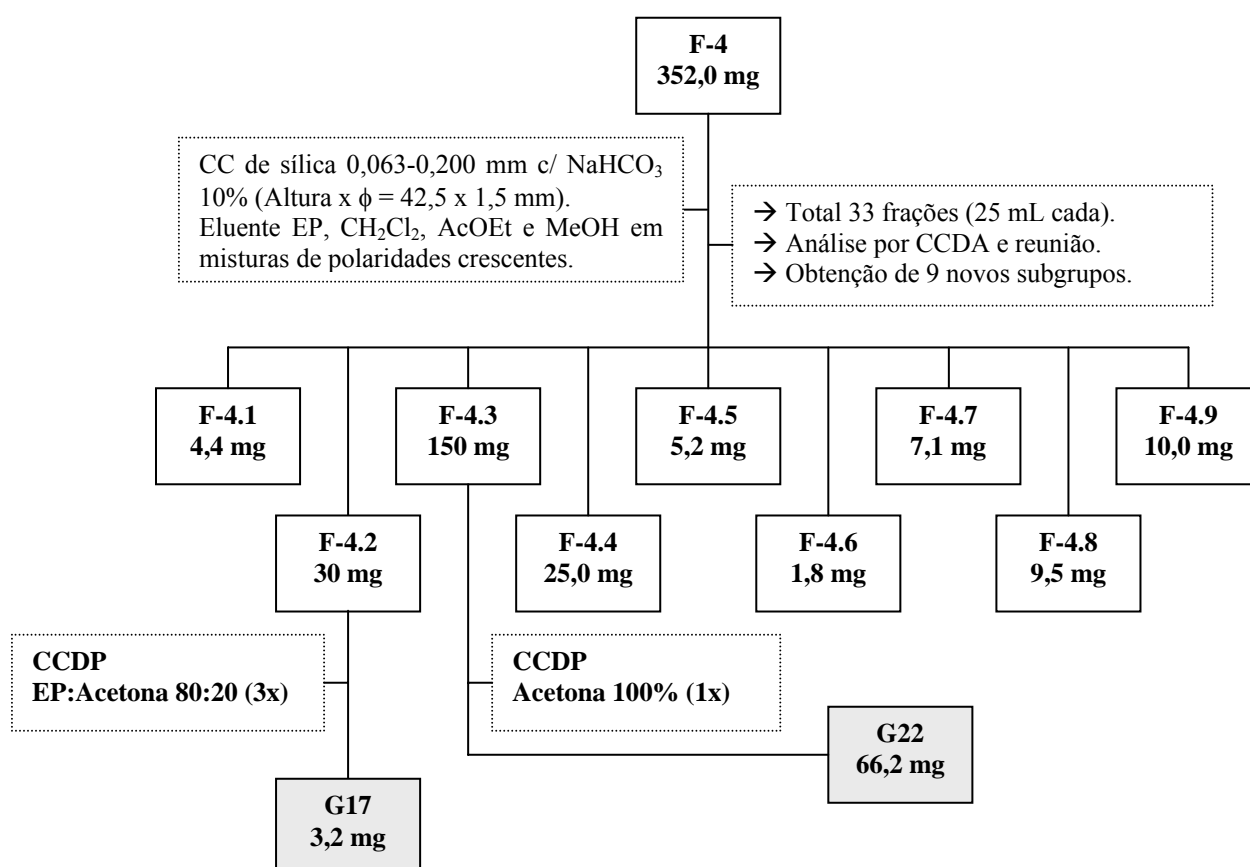
TABELA 12. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica das folhas de *G. friesiana* (FFMA)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-2	3,9		
2	3-11	2,8		
3	12-29	106,1		
4	30-60	352,0	G17	3,2
			G22	66,2
5	61-87	395,5	G22	56,7
			G37	6,5
			G38	6,3
			G39	3,5
			G26	5,0
			G28	15,0
			G40	1,0
			G41	1,1
			G42	4,0

6	88-120	581,9		
7	121-147	87,8		
8	148-150	295,4		
9	151-152	160,3		
10	153-159	219,9	G43	14,0
			G44	45,2
11	160-164	520,7	G44	53,7
12	165-177	1034,9		
13	178-179	189,9		
14	180-182	128,8		
15	183-193	121,0		
16	194-206	30,0		

4.7.1.3.1. ESTUDO DE F-4

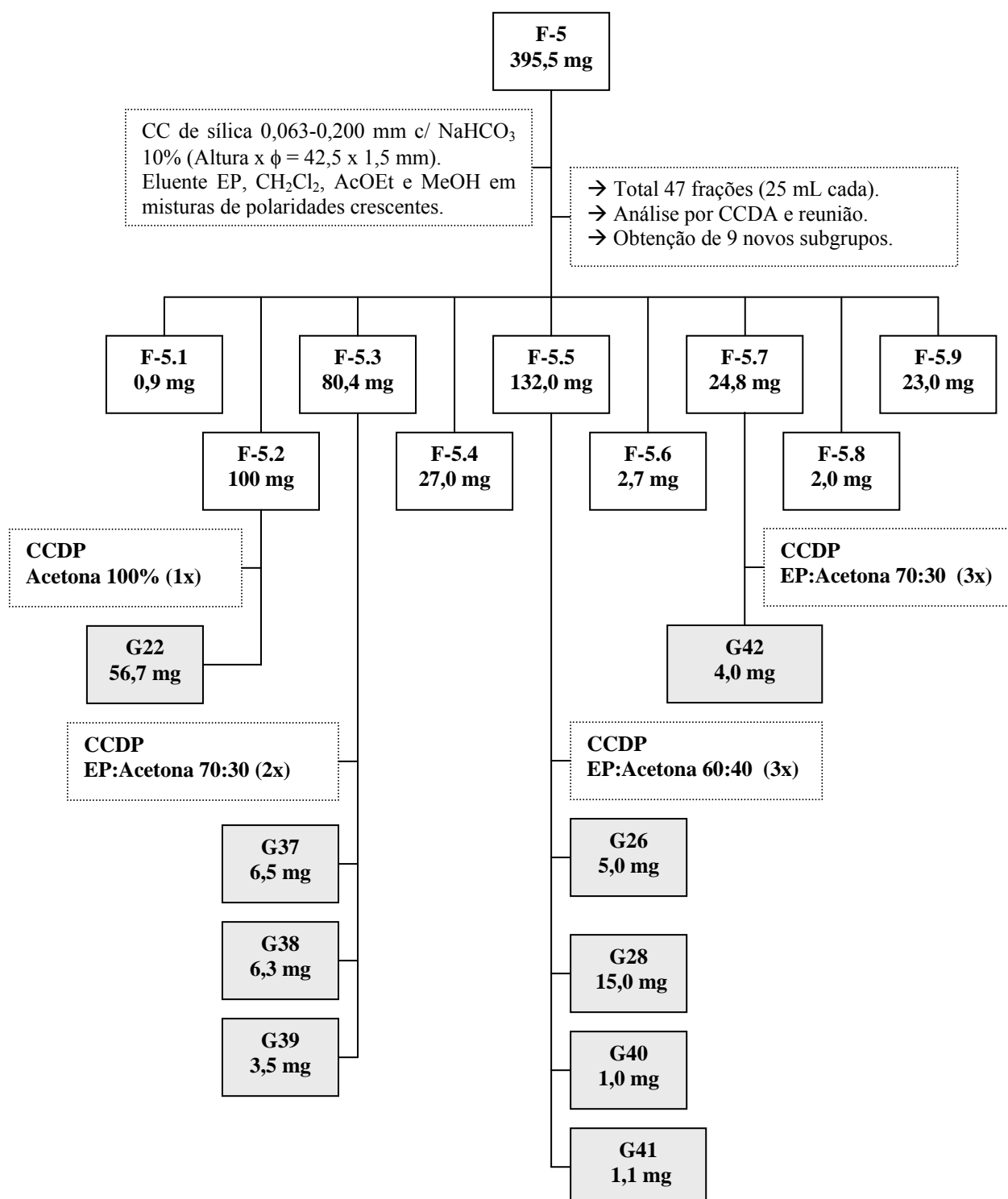
No ESQUEMA 32 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-4 (352,0 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G17** e **G22**.



ESQUEMA 32. Isolamento de **G17** e **G22**.

4.7.1.3.2. ESTUDO DE F-5

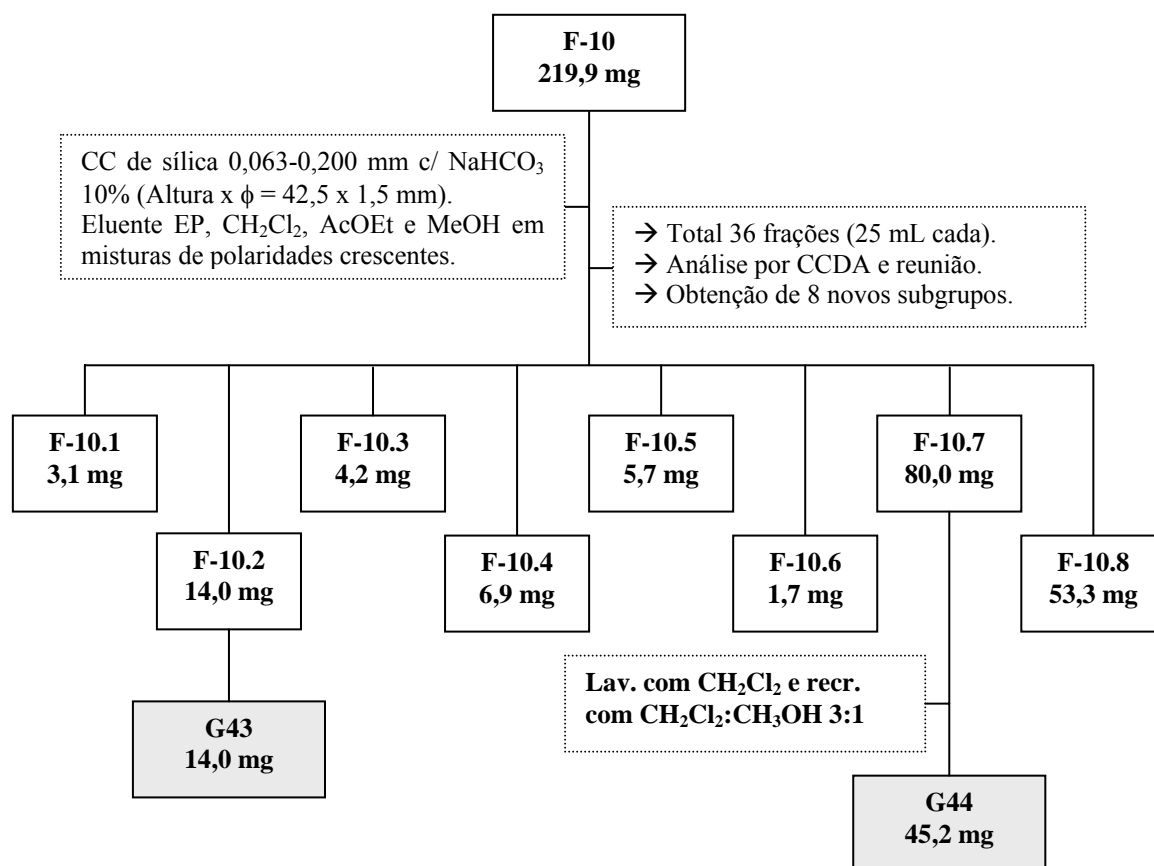
No ESQUEMA 33 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-5 (395,5 mg), o qual resultou no isolamento de nove substâncias **G22**, **G37**, **G38**, **G39**, **G26**, **G28**, **G40**, **G41** e **G42**.



ESQUEMA 33. Isolamento de **G22**, **G37**, **G38**, **G39**, **G26**, **G28**, **G40**, **G41** e **G42**.

4.7.1.3.3. ESTUDO DE F-10

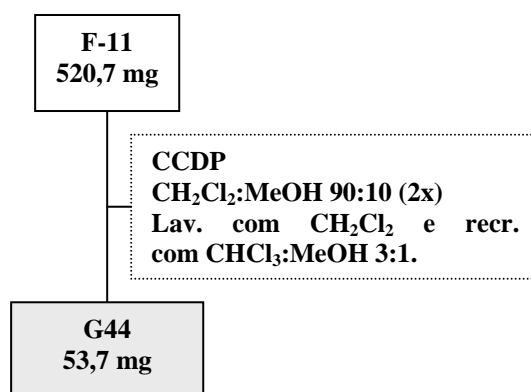
No ESQUEMA 34 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-10 (219,9 mg), o qual levou ao isolamento de dois compostos codificados como **G43** e **G44** (ESQUEMA 3).



ESQUEMA 34. Isolamento de G43 e G44.

4.7.1.3.4. ESTUDO DE F-11

No ESQUEMA 35 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-11 (520,7 mg), o qual resultou no isolamento de **G44**.



ESQUEMA 35. Isolamento de G44.

4.7.2. GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA

4.7.2.1. BCMA

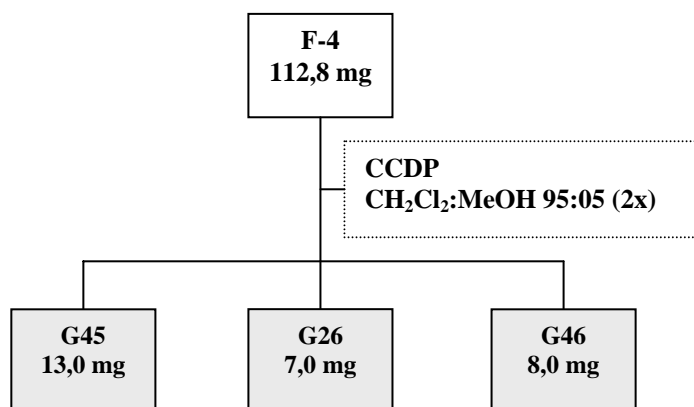
Uma parte desta fração alcaloídica (1,0 g), foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma CC (altura x ϕ = 42,0 x 2,2 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 20,0 g) tratada com solução de NaHCO₃ 10%, eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 98 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas em CCDA e as que apresentaram os mesmos R_{fs} foram reunidas (TABELA 13).

TABELA 13. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica da casca de *G. blepharophylla* (BCMA)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-4	18,2		
2	5-16	16,7		
3	17-19	40,0		
4	20-29	112,8	G45	13,0
			G26	7,0
			G46	8,0
5	30-38	87,0	G26	12,7
			G28	2,0
			G46	2,8
6	39-59	282,3	G47	9,0
7	60	2,1		
8	61-71	87,0	G48	12,5
9	72-73	9,2		
10	74-82	58,6	G34	31,2
11	83-85	13,8		
12	86-91	18,0		
13	92-97	71,9		

4.7.2.1.1. ESTUDO DE F-4

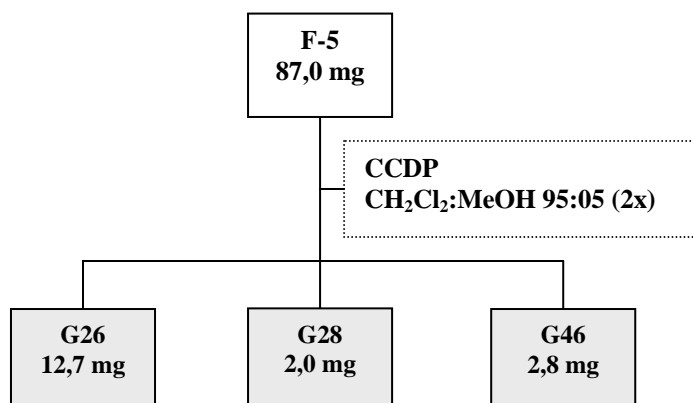
No ESQUEMA 36 é apresentado o resultado do estudo de F-4 (112,8 mg), o qual resultou no isolamento de três compostos codificados como **G45**, **G26** e **G46**.



ESQUEMA 36. Isolamento de **G45**, **G26** e **G46**.

4.7.2.1.2. ESTUDO DE F-5

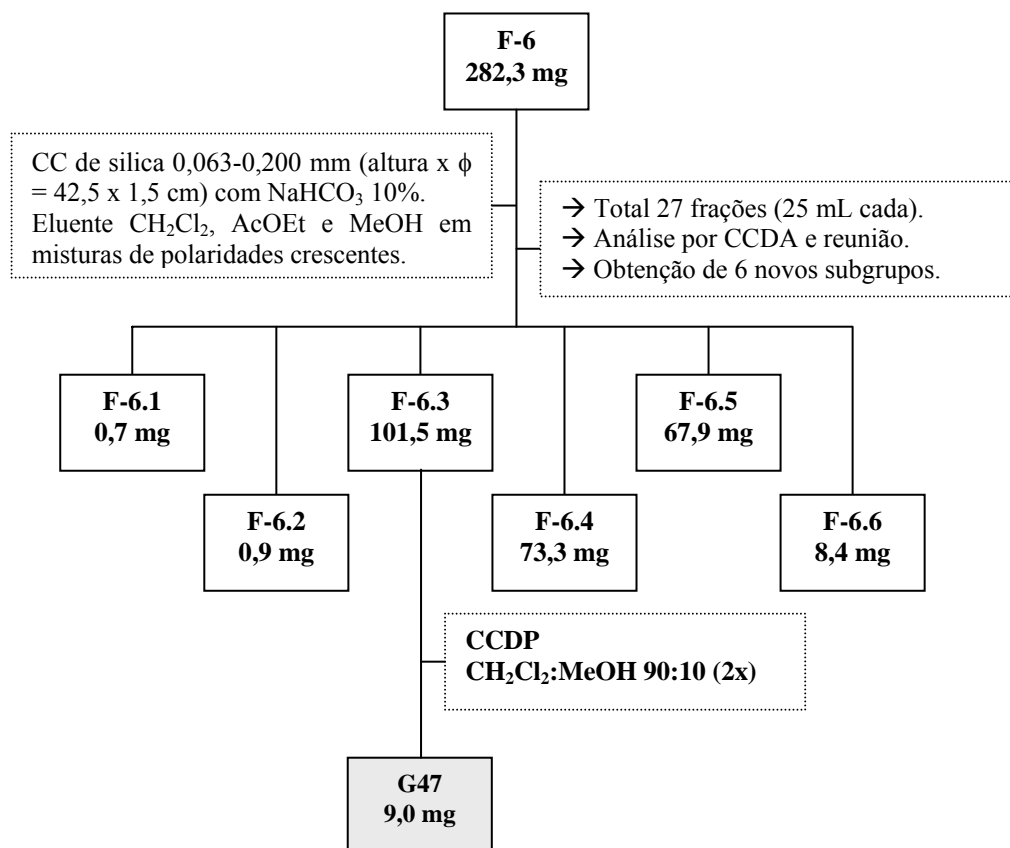
No ESQUEMA 37 é apresentado o resultado do estudo de F-5 (87,0 mg), o qual resultou no isolamento de dois compostos codificados como **G26**, **G28** e **G46**.



ESQUEMA 37. Isolamento de **G26**, **G28** e **G46**.

4.7.2.1.3. ESTUDO DE F-6

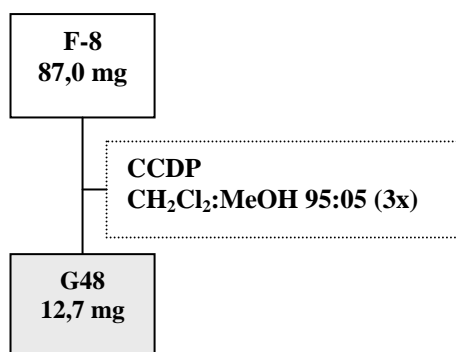
No ESQUEMA 38 é apresentado o resultado do estudo de F-6 (282,3 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G47**.



ESQUEMA 38. Isolamento de **G47**.

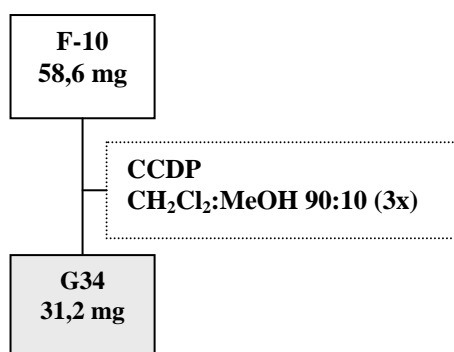
4.7.2.1.4. ESTUDO DE F-8

No ESQUEMA 39 é apresentado o resultado do estudo de F-8 (87,0 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G48**.

ESQUEMA 39. Isolamento de **G48**.

4.7.2.1.5. ESTUDO DE F-10

No ESQUEMA 40 é apresentado o resultado do estudo de F-10 (58,6 mg), o qual resultou no isolamento de um composto codificado como **G34**.

ESQUEMA 40. Isolamento de **G34**.

4.7.2.2. BCEMA

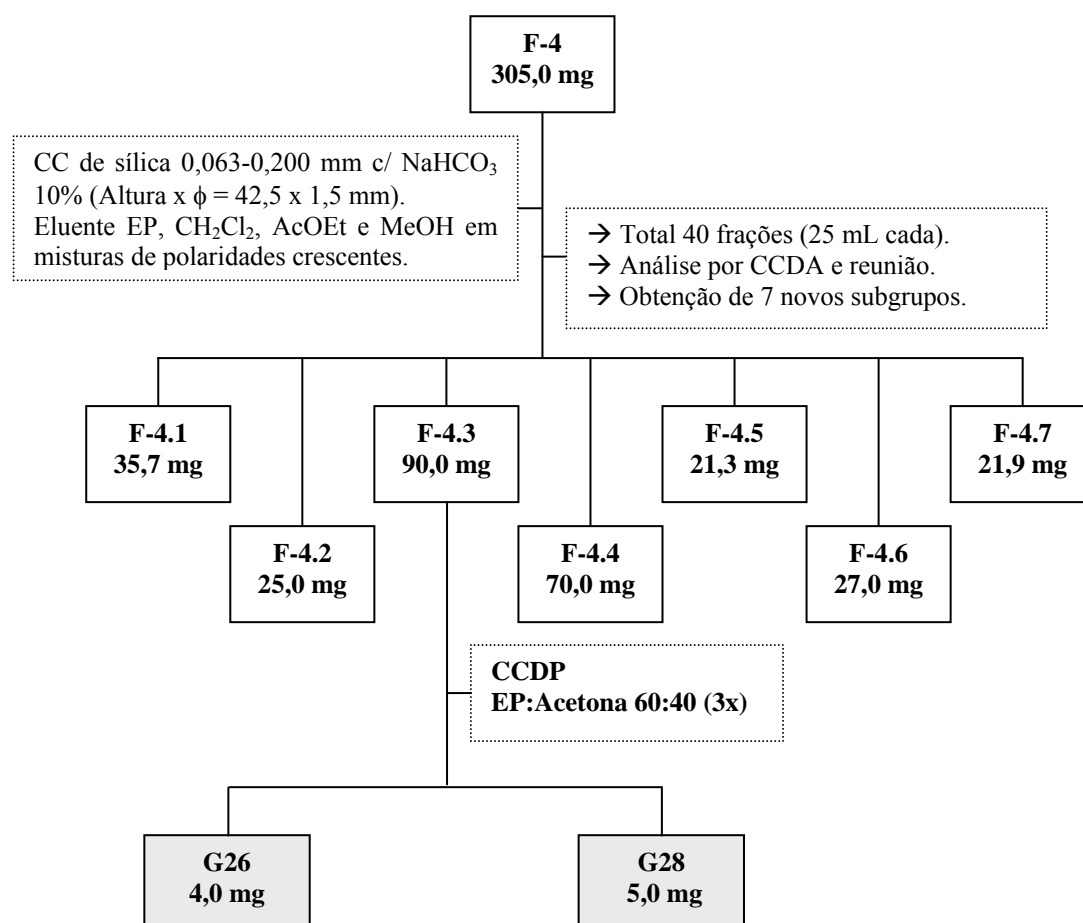
Uma parte desta fração alcaloídica (1,0 g), foi inicialmente submetida ao fracionamento por meio de uma CC (altura x ϕ = 42,0 x 2,2 cm) de alumina neutra (0,063-0,200 mm, 20,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 78 frações de 30 mL cada. As frações obtidas foram analisadas em CCDA e as que apresentaram os mesmos R_fs foram reunidas (TABELA 14).

TABELA 14. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas da fração alcaloídica do cerne de *G. blepharophylla* (BCEMA)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-12	23,7		
2	13-19	3,7		
3	20-35	4,2		
4	36-37	305,3	G26	4,0
			G28	5,0
5	38-47	262,0	G47	40,0
			G49	6,5
6	48-64	109,1		
7	65-78	25,0		

4.7.2.2.1. ESTUDO DE F-4

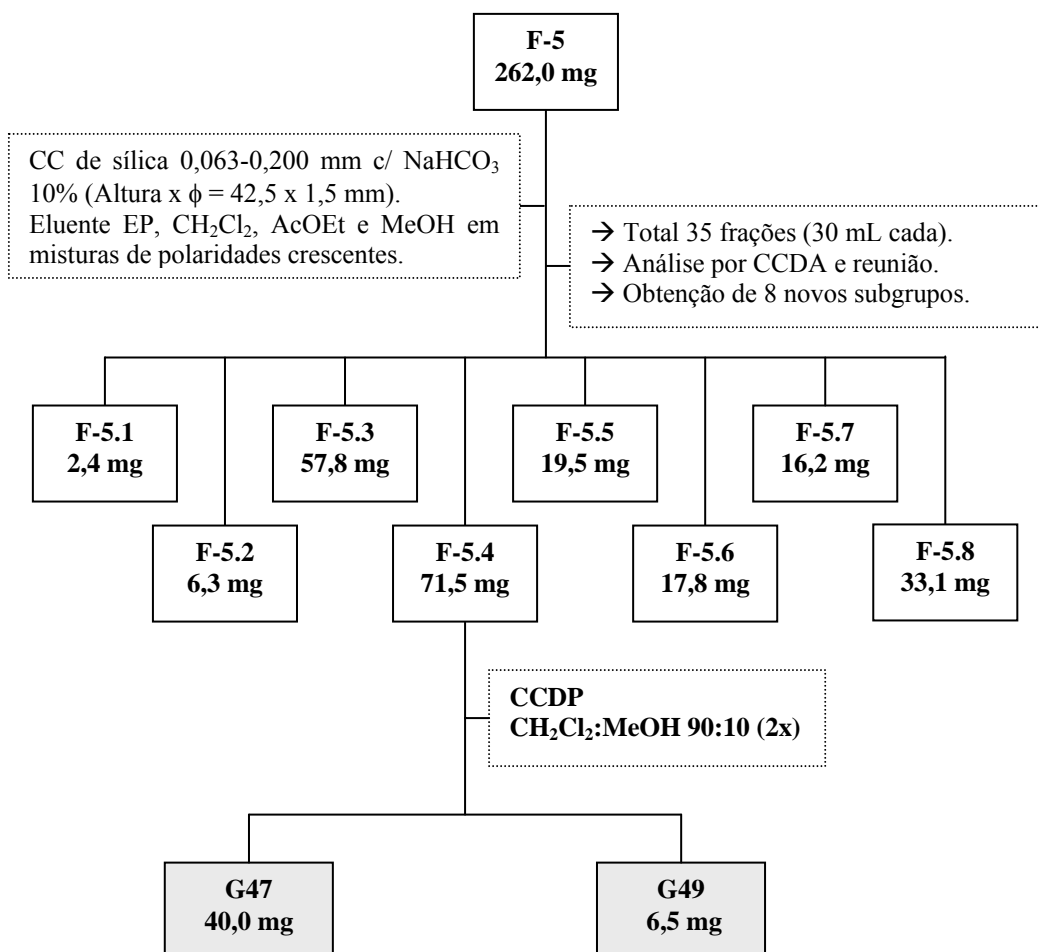
No ESQUEMA 41 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de G-4 (305,0 mg), o qual levou ao isolamento de dois compostos codificados como BCEMA-1 e BCMA-2.



ESQUEMA 41. Isolamento de G26 e G28.

4.7.2.2.2. ESTUDO DE F-5

No ESQUEMA 42 é apresentada a metodologia utilizada no estudo de F-5 (262,0 mg), o qual levou ao isolamento de dois compostos codificados como **G47** e **G49**.



ESQUEMA 42. Isolamento de **G47** e **G49**.

4.8. ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS ESPÉCIES DE *GUATTERIOPSIS*

4.8.1. EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAS E METODOLOGIA DE ANÁLISE

As folhas das três espécies de *Guatteriaopsis* coletadas aleatoriamente foram secas à temperatura ambiente por três dias, moídas e submetidas a hidrodestilação (250 g) por quatro horas, utilizando um aparelho do tipo Clevenger. Os óleos foram secos sob sulfato de sódio

anidro (Na_2SO_4) e a percentagem dos seus conteúdos foram calculados baseados no peso do material seco (TABELA 15). A extração foi realizada em triplicata. Parte então desse óleo essencial foi submetido às análises cromatográficas e testes de atividade antimicrobiana (ver TABELA 68).

TABELA 15. Características dos óleos essenciais de *Guatterriopsis*

Espécies	Aspecto	Densidade (g.mL^{-1})	Rendimento (%)
<i>G. blepharophylla</i>	óleo amarelado	0,9515	0,24
<i>G. friesiana</i>	óleo escuro	0,9361	0,50
<i>G. hispida</i>	óleo incolor	0,9037	0,41

4.8.2. ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Cromatografia Gasosa (CG): A análise dos constituintes voláteis foi realizada em um equipamento Hewlett Packard 6890 utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 mm, SA-5, Crossbond 5% fenil-95% dimetilpolisiloxano, Sigma-Aldrich) diretamente acoplada a um detetor de ionização de chama. As condições de injeção foram modificadas de Adams (2001): temperatura do injetor 240°C; temperatura do forno programada 60°C-300°C, 3°C/min, 300°C; split 20:1 duração 1.50 min; gás de arraste He com fluxo constante de 1 mL/min; volume da amostra 1 µL.

Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (CG/EM): A análise por CG/EM foi realizada por impacto eletrônico (IE) em um equipamento Hewlett Packard 6890 utilizando uma coluna de sílica fundida (30,0 m x 0,25 mm x 0,25 mm, HP-5MS, Crossbond 5% fenil-95% dimetilpolisiloxano) diretamente acoplada a um detetor de massas seletivo Hewlett Packard 5973. As condições de injeção foram às mesmas citadas acima. O espectro de massas foi operado a 70 eV.

A identificação dos constituintes voláteis foi assinalada com base na comparação dos seus índices de retenção (IR) e espectro de massas padrão com aqueles citados na literatura (ADAMS, 2001). Os índices de retenção foram calculados de acordo com a equação de VAN DEN DOOL & KRATZ (1963).

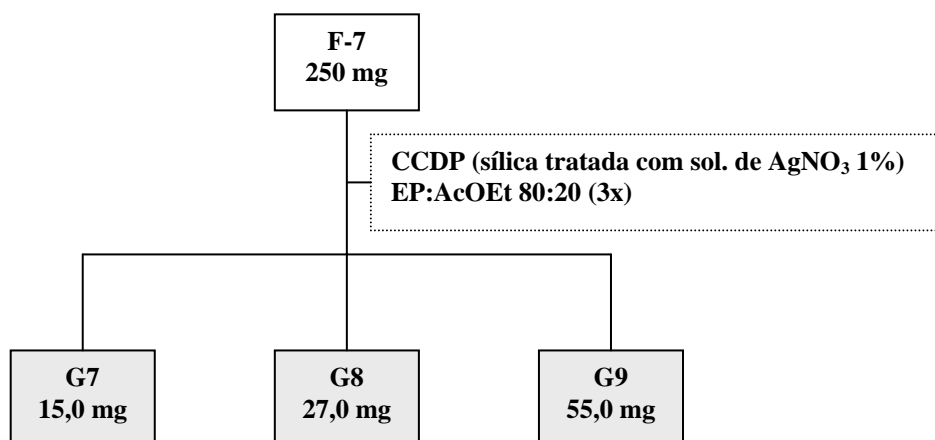
4.8.3. ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *GUATTERIOPSIS FRIESIANA* (FFOE)

Uma parte do óleo essencial de *G. friesiana* (500mg) foi inicialmente submetida ao fracionamento por meio de coluna cromatográfica (altura x ϕ = 40,5 x 1,2 cm) de sílica gel com 0,063-0,200 mm (10,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂, e AcOEt em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 40 frações de 25 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_fs (TABELA 16).

TABELA 16. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do óleo essencial de *G. friesiana* (FFOE)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-8	3,3		
2	9-12	5,8		
3	13-14	3,7		
4	15-17	4,3		
5	18-22	8,9		
6	23	2,8		
7	24-29	250	G7	15,0
			G8	27,0
			G9	55,0
8	30-31	7,0		
9	32-35	13,0		
10	36-40	27,0		

O ESQUEMA 43 corresponde à purificação por CCDP de G-7 (250 mg) que resultou no isolamento das substâncias **G7**, **G8** e **G9**.



ESQUEMA 43. Isolamento de **G7**, **G8** e **G9**.

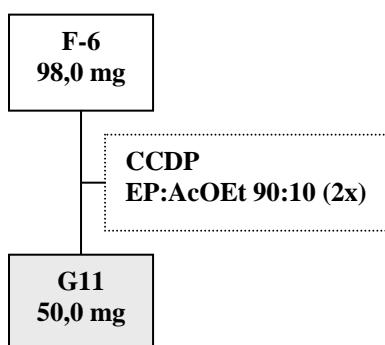
4.8.4. ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *GUATTERIOPSIS BLEPHAROPHYLLA* (BFOE)

Uma parte do óleo essencial de *G. blepharophylla* (200mg) também foi inicialmente submetida ao fracionamento por meio de coluna cromatográfica (altura x ϕ = 40,5 x 1,2 cm) de sílica gel com 0,063-0,200 mm (4,0 g), eluída com EP, CH₂Cl₂ e AcOEt em misturas de polaridades crescentes, obtendo-se 41 frações de 25 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_fs (TABELA 17).

TABELA 17. Relação entre grupos de frações/substâncias isoladas do óleo essencial de *G. blepharophylla* (BFOE)

Grupos de frações (F)	Frações	Massa (mg)	Substâncias Isoladas	Quantidade (mg)
1	1-10	4,1		
2	11-12	2,7		
3	13-17	4,5		
4	16-18	3,8		
5	19	4,2		
6	20-25	98,0	G11	50,0 mg
7	26-30	40,0		
8	31-32	5,2		
10	33-41	11,3		

O ESQUEMA 44 corresponde a purificação por CCDP de G-6 que resultou no isolamento da substâncias **G11**.



ESQUEMA 44. Isolamento de **G11**.

4.9. ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.9.1. TOXICIDADE SOBRE *ARTEMIA SALINA* (TAS)

O ensaio de avaliação de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS) foi realizado segundo a metodologia descrita por MEYER *et al.* (1982).

Neste ensaio, os ovos de *A. salina* foram eclodidos em um pequeno recipiente de plástico (17,5 x 10,5 cm) preenchido com solução de sal marinho artificial (38 g.L⁻¹). Um plástico divisor com vários furos de 2 mm foi adicionado ao recipiente para formar dois compartimentos desiguais. Os ovos (ca. 10 mg) foram colocados dentro do maior compartimento que foi escurecido, enquanto que o menor compartimento era iluminado. Após 48 h as larvas de *A. salina* eclodem e migram para o compartimento iluminado. Em seguida as larvas são coletadas utilizando uma pipeta para posterior bioensaio.

As amostras foram preparadas dissolvendo-se 10 mg do composto ou extrato em 2 mL do solvente apropriado (clorórmio ou metanol), obtendo-se no final uma concentração de 5 mg.mL⁻¹ (solução estoque). Da solução estoque volumes de 200, 100, 50, 25 e 10 µL foram adicionados em 5 diferentes frascos de penicilina e secos ao ar. Após total evaporação dos solventes, cada um dos cinco frascos recebeu 3 gotas de dimetilsulfóxido (DMSO), 3 mL de solução de sal marinho artificial (38 g.L⁻¹), 10 larvas de *Artemia salina* e o volume foi ajustado para 5 mL. A concentração final das amostras nos frascos de penicilina ficou respectivamente 200, 100, 50, 25 e 10 µg.mL⁻¹ (ppm).

Para o teste controle cada frasco recebeu o mesmo volume de solução de sal marinho, 3 gotas de DMSO e 10 larvas de *A. salina*. Após 24 horas de incubação, os frascos foram observados usando uma lupa e os sobreviventes em cada frasco foram contados e anotados. Posteriormente os valores de DL₅₀ com 95% de intervalo de confiança utilizando as artemias sobreviventes foram calculados utilizando o programa estatístico de computador “Probitos”.

O ensaio foi realizado em triplicata utilizando a cafeína como droga de referência. (MEYER *et al.*, 1982). Este ensaio foi utilizado apenas para o “screening” dos extratos e frações alcaloídicas e neutras.

Esse teste foi implementado no laboratório de produtos naturais e ecologia química (LAPNEQ) da Universidade Federal do Paraná por nosso grupo de pesquisa.

4.9.2. ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA (ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO*)

A avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* das amostras (extratos brutos, frações clorofórmicas neutras e alcaloídicas, e compostos puros) foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida pelo “National Cancer Institute (NCI-USA)”, utilizando nove linhagens de células tumorais humanas (TABELA 18) cultivadas em meio RPMI 160 (Gibco®)

suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB) (Gibco®) inativado, e incubadas a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂ (SKEHAN *et al.*, 1990).

TABELA 18. Linhagens de células tumorais humanas a serem utilizadas no ensaio de atividade antiproliferativa

Linhagem de célula tumoral humana	Código
Cólon	HT-29
Leucemia	K-562
Mama	MCF-7
Mama com fenótipo de resistência a múltiplas drogas	NCI-ADR
Melanoma	UACC-62
Ovário	OVCAR
Próstata	PCO-3
Pulmão	NCI-460
Rim	786-0

As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 1,0 g.mL⁻¹ resultando em soluções estoques. Para a adição na cultura de células, estas soluções foram diluídas pelo menos 400 vezes em RPMI/SFB/gentamicina, evitando a atividade do DMSO.

Basicamente o ensaio de atividade antiproliferativa consistiu em inocular 100 µL/compartimento, em placas de 96 compartimentos (Nunc®), de uma suspensão com densidade de inoculação entre 3,0 x 10⁴ e 6,5 x 10⁴ células/mL em meio RPMI/SFB acrescido de 50 µg.mL⁻¹ de gentamicina (Schering Plus®). Após 24 h de incubação a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂, foi adicionado 100 µL/compartimento da amostra a ser testada em quatro concentrações (0,25; 2,5; 25 e 250 µg.mL⁻¹). Como controle positivo foi utilizado o quimioterápico doxorrubicina nas mesmas concentrações das amostras teste.

Ao final de 48 h de incubação, as células foram fixadas com 50 µL/compartimento de ácido trifluoracético (TCA) a 50% e as placas foram incubadas por 1 h a 4 °C. Após esse período, quatro lavagens consecutivas com água destilada foram realizadas para a remoção de resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários. Depois de secas completamente, à temperatura ambiente, as placas foram coradas com 50 µL/compartimento com SRB 0,4% dissolvido em ácido acético 1% e mantidas por 30 minutos a 4 °C; em seguida, foram lavadas com ácido acético 1% (4x) e secadas à temperatura ambiente. Finalmente o corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com Trizma Base [(Sigma®), 10 µM, pH 10,5] por 5 minutos em ultrasson. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada por leitor de elisa em $\lambda = 540$ nm (SKEHAN *et al.*, 1990; MONKS *et al.*, 1991) no instrumento Labsystems Multiskan MCC/340.

Na análise dos resultados foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos e através da fórmula abaixo foi determinada a inibição de crescimento total ICT (“*Total Growth Inhibition-TGI*”) das amostras testadas. Os resultados obtidos foram analisados considerando-se:

Se $T > C$, existiu estimulação do crescimento celular;

Se $T \geq T_0$, mas $< C$, existiu uma atividade citostática e a fórmula utilizada foi $100 \times [(T - T_0)/(C - T_0)]$;

Se $T < T_0$, existiu atividade citocida e a fórmula utilizada foi $100 \times [(T - T_0)/(T_0)]$.

Onde, T é a média da absorbância da célula tratada, C é o controle de célula e T_0 é o controle das células no dia da adição. Finalmente, também foi possível subtrair o resultado de 100%, obtendo-se a percentagem de inibição de crescimento (IC). As amostras serão consideradas ativas quando apresentarem inibição de crescimento maior que 50% e ainda de forma dose dependente.

Estes testes foram realizados na Divisão de Farmacologia e Toxicidade do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Química, Biológica e Agrícola (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), tendo como colaborador o Professor Dr. João Ernesto de Carvalho.

4.9.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA (CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA – CIM)

As amostras (extratos brutos, frações clorofórmicas e neutras, óleos essenciais e compostos puros) foram avaliados quanto à sua atividade antimicrobiana (antifúngica e antibacteriana) contra onze microrganismos. Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados na Divisão de Microbiologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Química, Biológica e Agrícola (CPQBA) - UNICAMP tendo como colaboradora a Professora Dra. Marta Cristina Teixeira.

4.9.3.1. MICRORGANISMOS

Bacillus subtilis ATCC 5061, *Candida albicans* ATCC 10231, *Enterococcus faecium* CCT 5079, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Staphylococcus*

epidermidis ATCC 12228). Esses microrganismos foram obtidos da “Tropical Culture Collection (TCC)” da Fundação André Tosello, Campinas, São Paulo, Brasil, e foram selecionados devido a sua importância medicinal. São sistematicamente usados como parte de um programa de “screening” direcionado para a identificação de produtos naturais com potencial a ser explorado como novas drogas antimicrobiana.

4.9.3.2. MEIOS DE CULTURA

No caso dos testes com as bactérias foi utilizado o meio Nutriente Agar, e para a levedura *C. albicans*, meio Ágar Sabouraud Dextrose.

4.9.3.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi avaliada através da determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) das amostras (extratos brutos, frações clorofórmicas neutras e alcaloídicas, compostos puros e óleos essenciais), de acordo com o método da microdiluição (ELOFF, 1998), descrito a seguir:

Em uma microplaca esterilizada de 96 orifícios ou poços foram depositados 100 µL de caldo Mueller-Hinton, com exceção da coluna 12, que foi utilizada para os controles. Na coluna 1 - linha A foram acrescentados 50 µL da amostra a ser testada, de concentração conhecida (uma amostra diferente para cada número ou coluna), até a concentração de 1,0 mg.mL⁻¹. Em seguida, 100 µL do conteúdo do orifício foram homogeneizados com o meio e transferidos para o orifício da linha seguinte (B), repetindo-se este procedimento até a linha H, de modo a obter uma concentração decrescente das amostras. Os 100 µL finais foram desprezados. Em seguida, 100 µL de uma suspensão dos microrganismos, de crescimento recente (24 horas), cuja turvação foi comparada à escala de McFarland nº 0,5 e diluídos para concentração final de 10⁴ células.mL⁻¹ foram adicionados. As placas foram seladas com parafilme e incubadas por 24 h à 37°C. Após este período foram acrescentados 50 µL de uma solução aquosa de TTC (cloreto de trifetil tetrazolium) a 0,5%, e a placa re-incubada por 3 h na referida temperatura. A MIC foi definida como a menor concentração da amostra capaz de impedir o aparecimento de coloração vermelha de acordo com ELOFF, 1998. As soluções estoques das amostras foram diluídas e transferidas para os primeiros poços, e diluições seriais foram realizadas dentro da faixa de concentração de 1.0-0,016 mg.mL⁻¹.

Foram também incluídos nos testes controles dos antibióticos nistatina e cloranfenicol (Merck) dentro da faixa de concentração de 0,25-0,002 mg.mL⁻¹, para confirmação da esterilidade do meio de cultura e do crescimento do microrganismo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se o estudo fitoquímico de três espécies brasileiras do gênero *Guatteria* (*G. friesiana*, *G. blepharophylla* e *G. hispida*), e a avaliação da atividade antimicrobiana, antitumoral e toxicidade sobre *A. salina*.

Do estudo fitoquímico das espécies de *Guatteria* (Annonaceae) foi possível o isolamento de quatro classes de compostos orgânicos (TABELA 19), sendo três comumente encontradas em espécies dessa família (sesquiterpenos, esteróides e alcalóides) e um sendo o primeiro registro na família (lactona sesquiterpênica). Entre os compostos isolados destacam-se os alcalóides, constituintes majoritários isolados das espécies *G. friesiana* e *G. blepharophylla*, e considerados os principais produtos biossintéticos da família Annonaceae. Alguns compostos foram comuns entre as espécies estudadas, enquanto outros foram característicos de suas respectivas espécies, bem como encontrados apenas em uma das partes estudadas (casca, cerne ou folha). No total foram isoladas 62 substâncias de *G. friesiana* e 16 de *G. blepharophylla*, compreendendo 51 compostos diferentes entre substâncias inéditas e conhecidas. Até o presente foram identificados 45 compostos sendo 21 inéditos de acordo com pesquisas realizadas no “*Chemical Abstracts*” e “*Scienfinder Scholar*”, restando apenas seis compostos a serem elucidados estruturalmente. Os compostos isolados foram identificados utilizando as técnicas modernas de elucidação estrutural tais como, RMN ^1H e ^{13}C 1D/2D incluindo NOE e NOESY, IV, UV e EM. Os compostos conhecidos foram identificados utilizando as técnicas acima mencionadas, bem como comparação com os dados descritos na literatura.

Todos os compostos isolados de *G. friesiana* e *G. blepharophylla* são considerados inéditos no gênero *Guatteria*, uma vez que na literatura foi encontrado apenas um registro referente à identificação por CG/EM dos óleos essenciais das folhas de *G. blepharophylla* (MAIA *et al.*, 2005). Na TABELA 19 são mostradas todas as substâncias isoladas com suas respectivas classes de compostos de acordo com a espécie e a parte da planta estudada.

Para os alcalóides isolados observou-se a presença de duas subclasses predominantes, os aporfinóides e o protoberberínicos (FIGURA 20, TABELA 20). Os aporfinóides de acordo com PELLETIER (1987) podem ser subdivididos em oito subclasses: proaporfinos, aporfinos, oxoaporfinos, oxoaporfinos no anel B, aporfinóides diméricos, fenantrenos e aporfinóides degradados. Neste trabalho foi possível o isolamento de duas subclasses dentre as oito classificadas, os aporfinos e os oxoaporfinos. Os aporfinos também podem ainda ser subdivididos em quatro subgrupos, aporfinos *sensu stricto*, deidroaporfinos, 7,7-

dimetilaporfins ou 7-hidroxi-7-metilaporfins, e 7-oxigenadoaporfins ou 4,7-dioxigenadoaporfins. Dentre estes foi possível o isolamento dos aporfins *sensu stricto*, 7,7-dimetilaporfins e 7-hidroxi-7-metilaporfins (TABELA 20).

Durante o andamento do trabalho observou-se algumas características a respeito das classes dos constituintes isolados. Os esteróides e os sesquiterpenos (TABELA 19) foram encontrados em ambas as espécies estudadas (*G. blepharophylla* e *G. friesiana*), enquanto que as lactonas sesquiterpênicas foram isoladas apenas de *G. friesiana* (TABELA 19). Os sesquiterpenos ainda foram detectados no óleo essencial de *G. hispida*.

Para os constituintes alcaloídicos (TABELA 20) também observou-se algumas características interessantes do ponto de vista quimiotaxonômico. Os alcalóides aporfins *sensu stricto* foram encontrados apenas em *G. blepharophylla*. Já os oxoaporfins e protoberberínicos estavam presentes em ambas as espécies. Os alcalóides 7,7-dimetilaporfins e 7-hidroxi-7-metilaporfins foram encontrados apenas em *G. friesiana*, mostrando que cada uma destas espécies, embora pertencentes ao mesmo gênero, apresentam características químicas específicas. A maioria dos compostos isolados está de acordo com as principais classes de compostos encontradas em espécies da família Annonaceae, mostrando que as espécies estudadas são quimicamente típicas de Annonaceae (GUINAUDEAU *et al.*, 1975, 1979, 1983, 1988, 1994; LEBOEUF *et al.*, 1982; WIJERATNE *et al.*, 1996; WAFO *et al.*, 1999; MONTENEGRO *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2006).

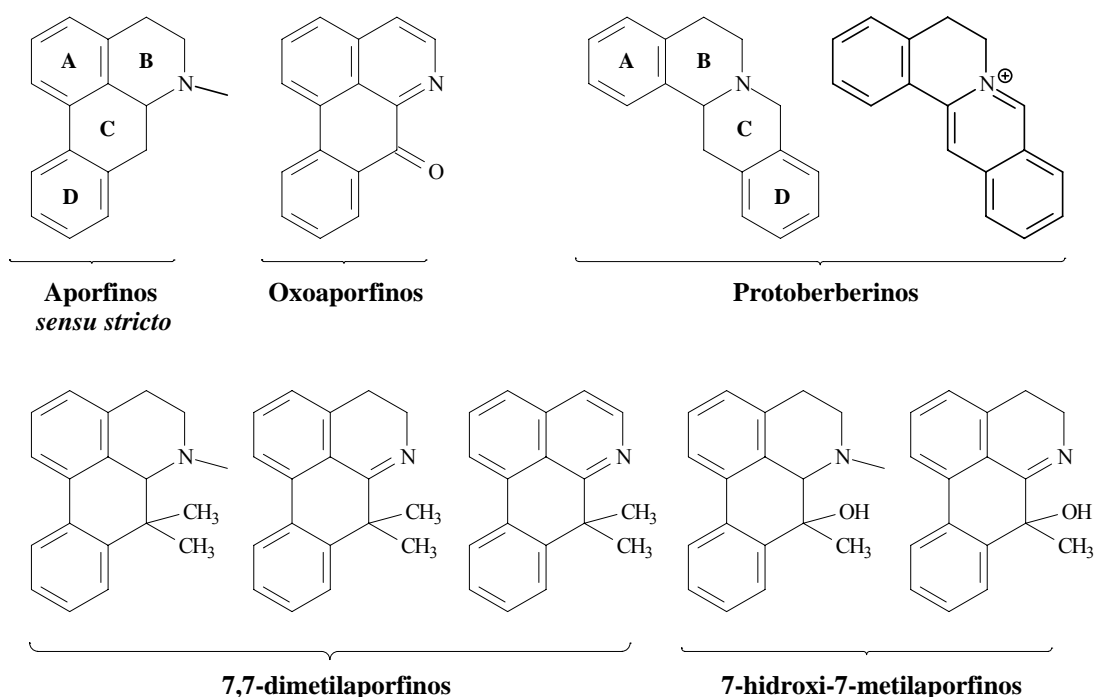


FIGURA 20. Esqueletos básicos dos alcalóides isolados das espécies de *Guatteria*.

TABELA 19. Compostos isolados das espécies de *Guatterioopsis* estudadas

TABELA 19: Compostos isolados das espécies de <i>Guatteropsis</i> estudadas					
Espécie Estudada	Quant.	Classe de Composto Orgânico			
		Esteróides	Lactonas Sesquiterpênicas	Sesquiterpenos	Alcalóides
<i>G. friesiana</i>					
Casca					
FCH	6	G1	G2, G3, G4, G5 e G6		
FCMA	23		G3 e G6		G14, G15, G16, G17, G18, G19, G20, G21, G22, G23, G24, G25, G26, G27, G28, G29, G30, G31, G32, G33 e G34
Cerne					
FCEH	2	G1	G2		
FCEMA	6				G15, G20, G22, G28, G35 e G36
Folha					
FFH	10	G1	G2, G3, G4, G5, G6 e G10	G7, G8 e G9	
FFMA	12				G17, G22, G26, G28, G37, G38, G39, G40, G41, G42, G43 e G44
FFOE	3			G7, G8 e G9	
<i>G. blepharophylla</i>					
Casca					
BCH	4	G1		G11, G12 e G13	
BCMA	7				G26, G28, G34, G45, G46, G47 e G48
Cerne					
BCEMA	4				G26, G28, G47 e G49
Folha					
BFOE	1			G11	
Total	78*				

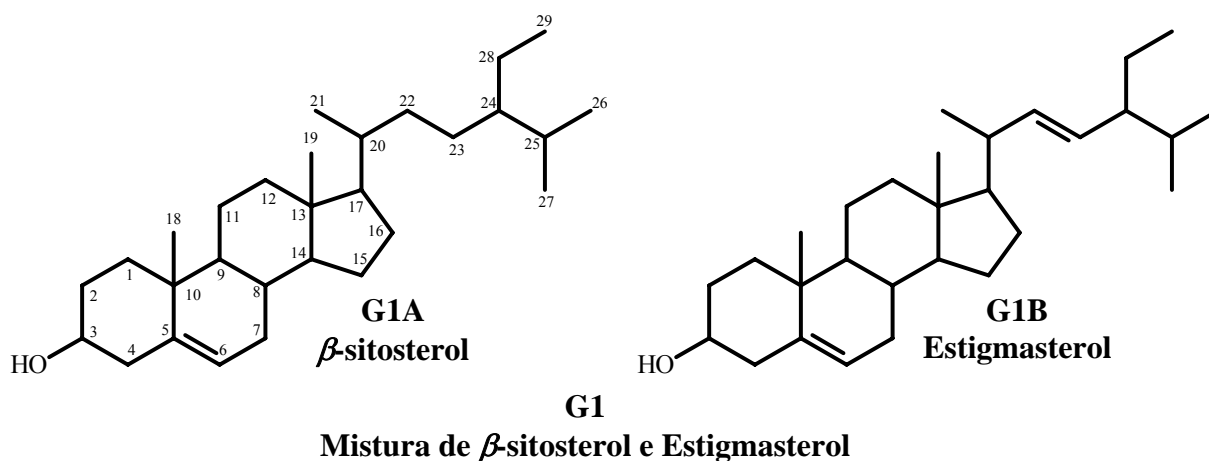
* Total de substâncias isoladas correspondendo a 51 compostos diferentes entre substâncias inéditas e conhecidas.

TABELA 20. Classe de alcalóides isolados das espécies de *Guatterioopsis* estudadas

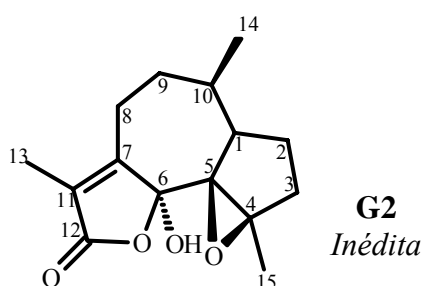
Alcalóides	Aporfinóides				Protoberberinos1 25
	Aporfinos <i>sensu stricto</i>	Oxoaporfinos	7,7-dimetilaporfinos	7-hidroxi-7- metil-apofinos	
FCMA		G26, G28 e G34	G14, G15, G16, G17, G18, G19, G20, G21, G22, G23, G24, G27, G29, G30, G31, G32 e G33	G25	
FCEMA			G15, G20 e G22		G35 e G36
FFMA		G26, G28, G40 e G41	G17, G22 e G38	G39	G37, G42, G43 e G44
BCMA	G46	G26, G28, G34 G45 e G48			G47
BCEMA	G49	G26 e G28			G47

A seguir são mostradas as substâncias isoladas e identificadas de acordo com a sua respectiva classe de composto orgânico.

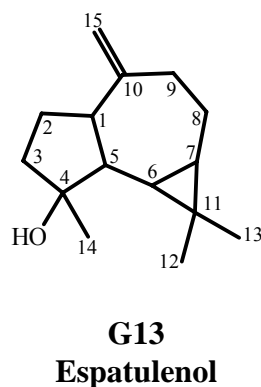
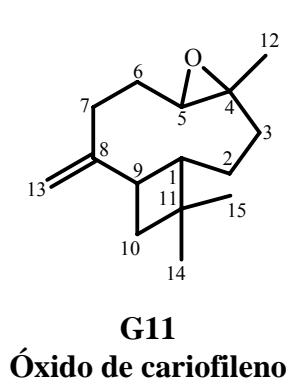
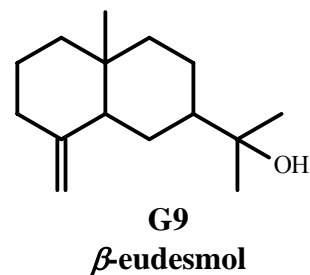
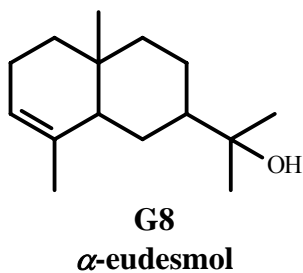
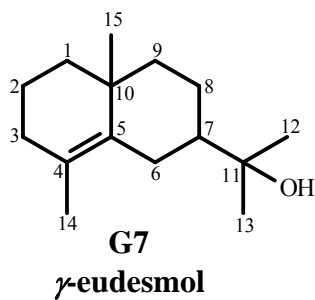
I - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ESTERÓIDES



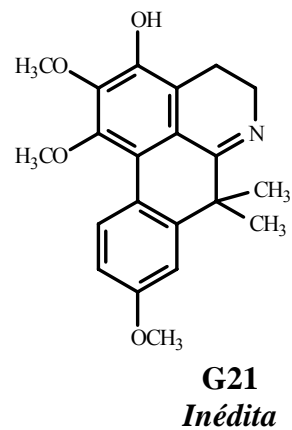
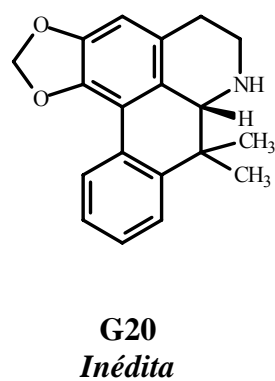
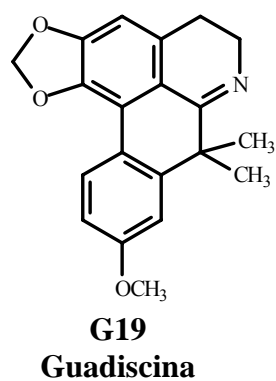
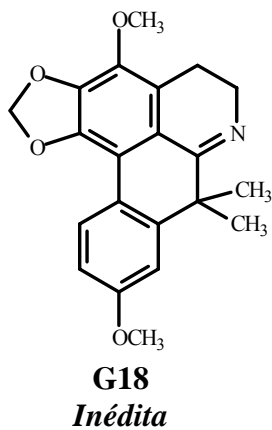
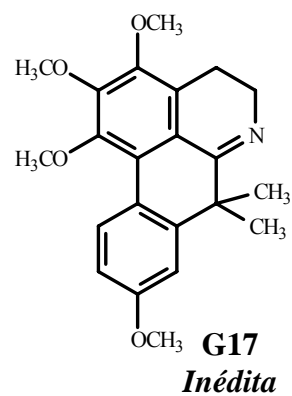
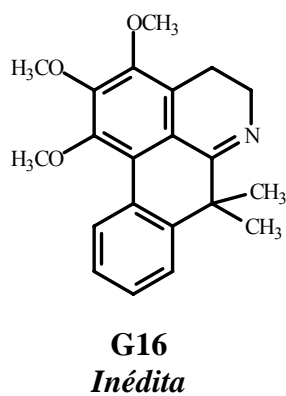
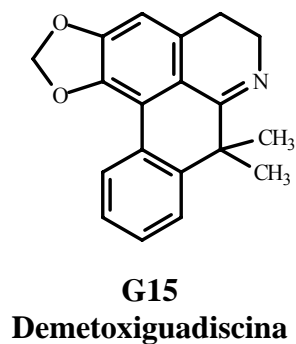
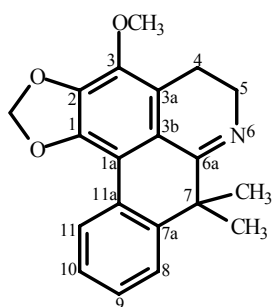
II - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DAS LACTONAS SESQUITEPÊNICAS

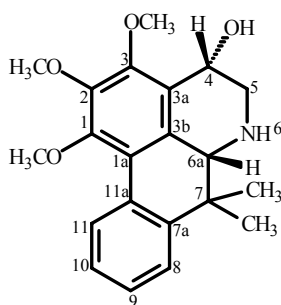


III- COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS SESQUITERPENÓIDES

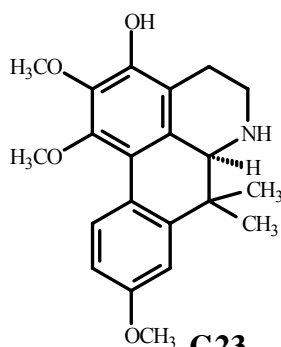


IV- COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7,7-DIMETILAPORFINOS

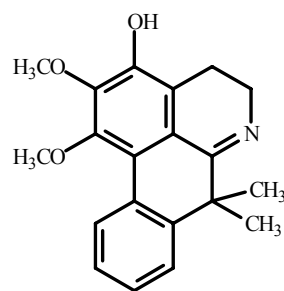




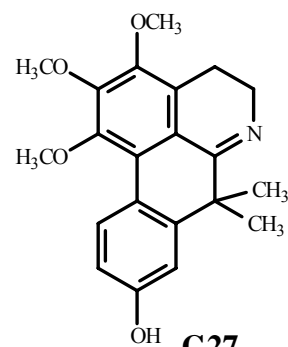
G22
Inédita



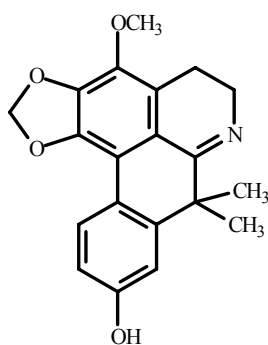
G23
Inédita



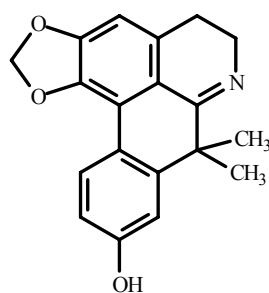
G24
Inédita



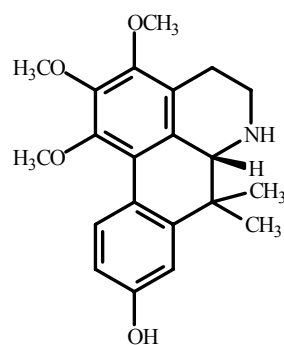
G27
Inédita



G29
Inédita

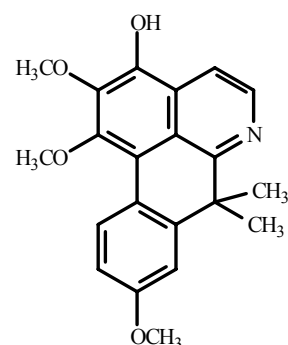


G30
Guadiscidina

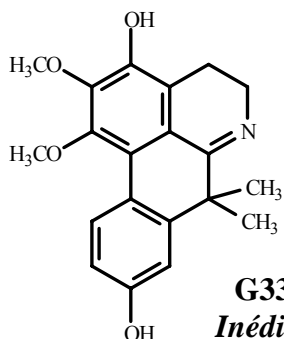


G31

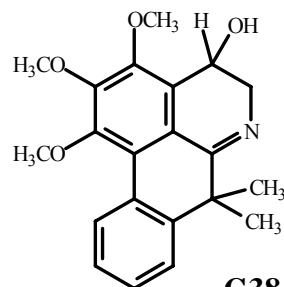
Inédita como produto natural



G32
Inédita

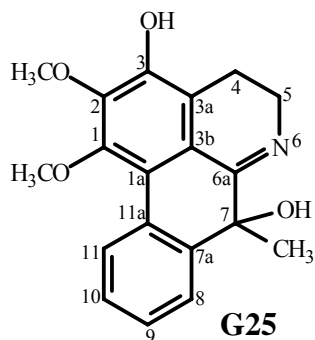


G33
Inédita

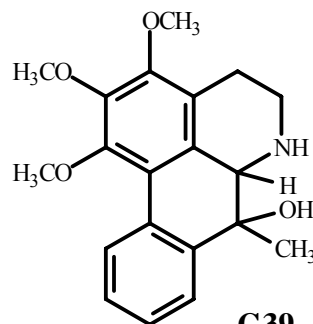


G38
Inédita

V - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7-HIDROXI-7-METILAPORFINOS

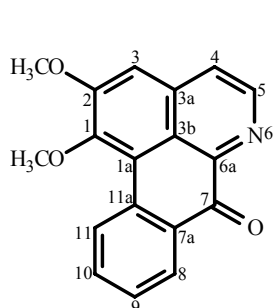


G25
Inédita

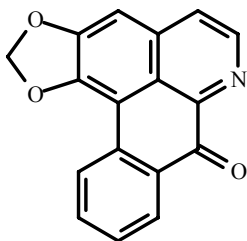


G39
Inédita

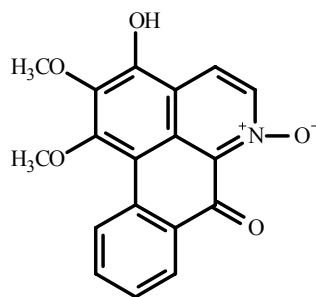
VI - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ALCALÓIDES DO TIPO OXOAPORFINOS



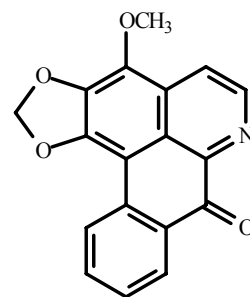
G26
Lysicamina



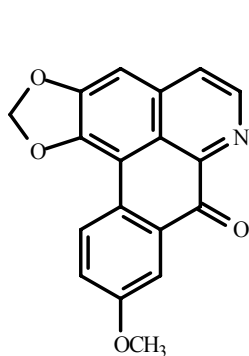
G28
Liriodenina



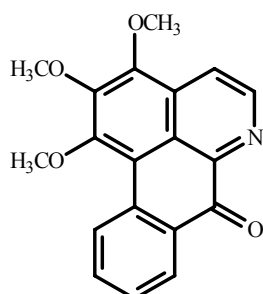
G34
Inédita



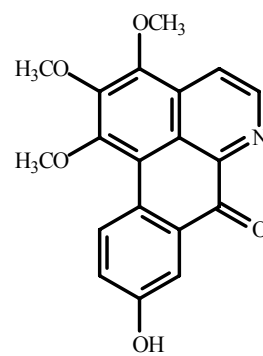
G40
Atherospermidina



G41
Lanuginosina

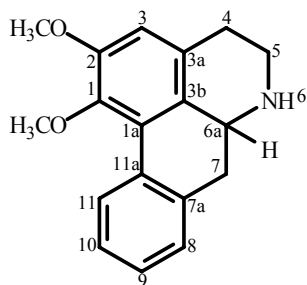


G45
O-metilmoschatolina

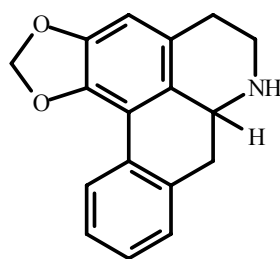


G48
Subsessilina

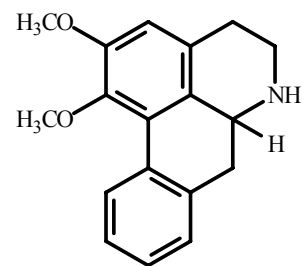
VII - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ALCALÓIDES DO TIPO APORFINO *SENSU STRICTO*



G46
Nornuciferina



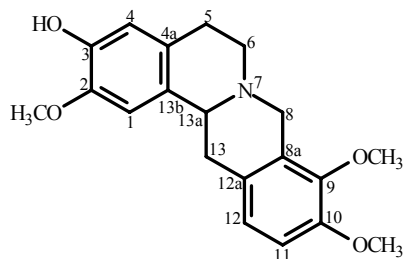
G49A
Annonaina



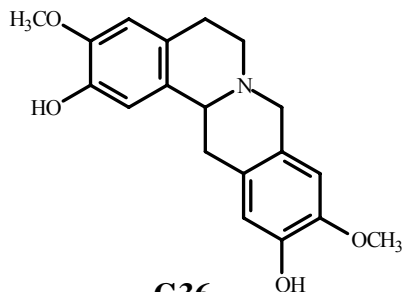
G49B (G46)
Nornuciferina

G49
Mistura de Annonaina e Nornuciferina

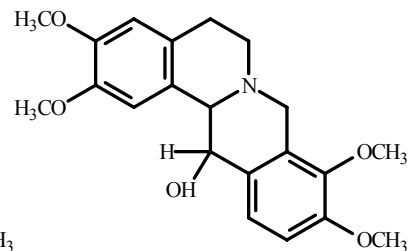
VIII - COMPOSTOS ISOLADOS PERTENCENTES À CLASSE DOS ALCALÓIDES DO TIPO PROTOBERBERINOS



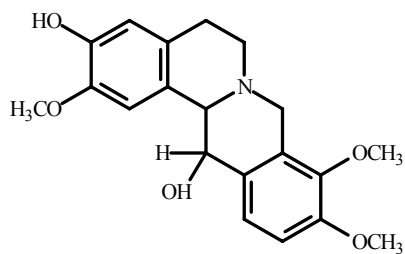
G35
Corypalmina ou
Discretinina



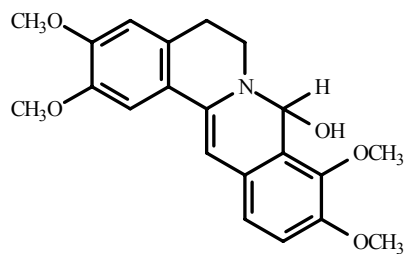
G36
Coreximina



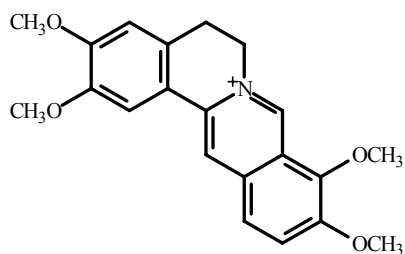
G37
Inédita como produto natural



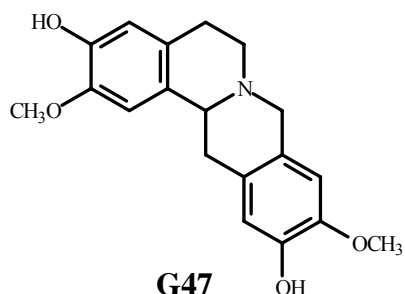
G42
Inédita



G43
7,8-diidro-8-hidroxipalmatina



G44
Palmatina

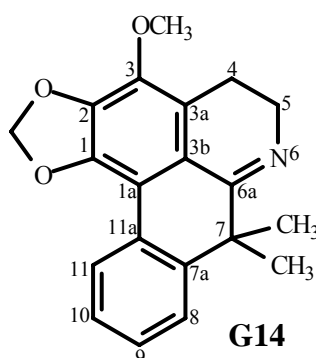


G47
Isocoreximina

5.1. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DAS ESPÉCIES DE *GUATTERIOPSIS*

5.1.1. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7,7-DIMETILAPORFINOS

5.1.1.1. DETERMINAÇÃO DE G14, G15, G16, G17, G18, G19, G21, G22, G23, G24, G27, G29, G30, G31, G32, G33 E G38



O composto **G14** apresentou-se como um óleo amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{20}H_{19}NO_3$ (calculado 321,1365) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C . Pela análise do espectro de absorção na região do ultravioleta observou-se características de um esqueleto do tipo 7,7-dimetilaporfínico pelos máximos de absorções (λ_{max}) em 204, 262, 296 e 336 nm (ANEXO I - E1) (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Pela análise do espectro de absorção na região do infravermelho observou-se ausência de grupos hidroxila e carbonila, porém verificou-se absorções típicas de sistema aromático (ANEXO I - E2).

Pela análise do espectro de RMN de 1H (ANEXO I - E3, E4 e E5) e ^{13}C (ANEXO I - E6) (400 e 100 MHz, $CDCl_3$) de **G14** observou-se características de um alcalóide do tipo 7,7-dimetilaporfínico devido ao sinal de um singlete em δ 1,50 com integração para seis hidrogênios no espectro de 1H correlacionado ao sinal do carbono em δ 27,58 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E7), típicos dos grupos metílicos substituídos em C-7. Observou-se também dois sinais centrados ambos na forma de multipletos em δ 3,60 (2H, H-5) e δ 2,59 (2H, H-4) correlacionados aos carbonos em δ 46,80 e δ 19,54, respectivamente, correspondendo a um sistema $CH_2 - CH_2$ característicos dos hidrogênios metilênicos do anel B do sistema aporfínico. Esses sinais juntamente com o sinal dos grupos metílicos em δ 1,50 são indicativos da presença de uma ligação dupla entre C-6a e N-6, correspondendo a um

alcalóide contendo a estrutura 6,6a-desidro-7,7-dimetilaporfino. Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se a presença de três sinais com integração para quatro hidrogênios em δ 8,18 (1H, m), δ 7,29 (2H, m) e δ 7,52 (1H, m), típicos dos hidrogênios aromáticos do anel D não substituído do sistema aporfínico, atribuídos a H-11, H-10/H-9 e H-8, respectivamente. Observou-se ainda dois sinais na forma de singletos, sendo um em δ 6,10 (2H) típico dos hidrogênios do grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2, e um em δ 4,04 (3H) característico de grupo metoxílico substituído em C-3 do anel A (GUINAUDEAU *et al.*, 1983) (TABELA 21).

Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E6), e mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E7) e gHMBC (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E8) de **G14** observou-se a presença de 20 carbonos sendo 12 aromáticos entre δ 143,64 e δ 111,61, dois quaternários, sendo um em δ 170,55 (C-6a) típico de grupo imina ($\text{C}=\text{N}$) e outro em δ 42,82 (C-7) típico de carbono alifático, um metoxílico em δ 59,87 (C-3), três metilênicos sendo um em δ 101,17 característico de grupo metilenodióxi (OCH_2O), e dois em δ 46,80 (C-5) e δ 19,54 (C-4), e dois grupos metílicos sobrepostos em δ 27,58 (7- CH_3), consistente com a estrutura de **G14** (TABELA 21).

A presença da ligação dupla entre C-6a e N-6 foi confirmada pelo sinal do carbono em δ 170,55, o qual mostrou correlação a J^3 no mapa de contorno gHMBC com os sinais dos hidrogênios em δ 3,60 (H-5) e δ 1,50 (7- CH_3). Ainda pelo mapa de contorno gHMBC foi possível confirmar o esqueleto 7,7-dimetilaporfínico pela correlação do sinal em δ 1,50 (7- CH_3) a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 170,55 (C-6a) e δ 143,60 (C-7a), bem como a presença do grupo metoxílico substituído em C-3 pela correlação do sinal em δ 2,59 (H-4) a J^3 com o sinal do carbono em δ 139,23 (C-3) (FIGURA 21, TABELA 21). Posteriormente baseado nessas informações e nas correlações dos hidrogênios aromáticos localizados no anel D, o grupo metilenodióxi foi confirmado no anel A, substituído em C-1 e C-2.

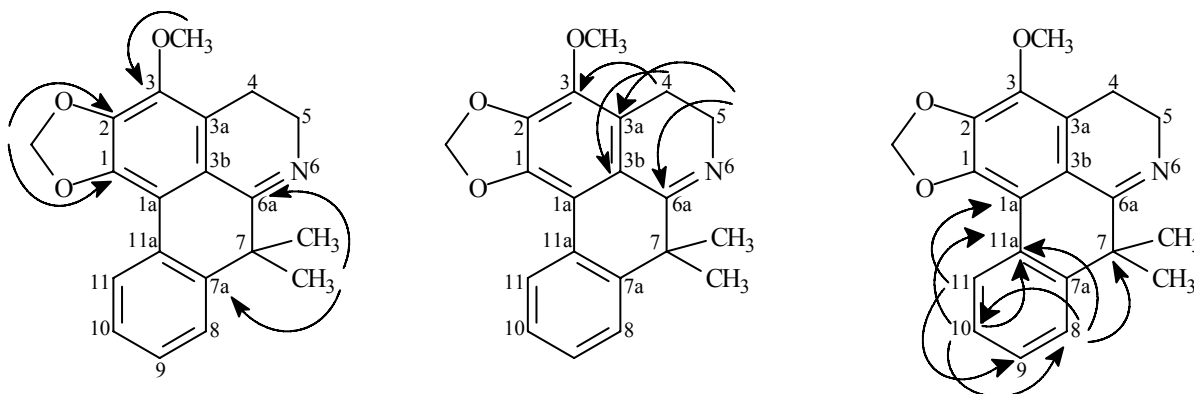


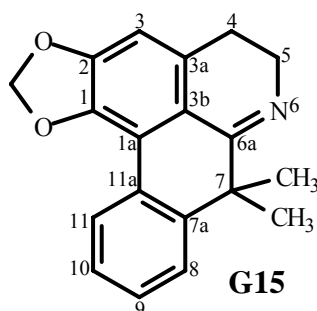
FIGURA 21. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G14**.

Pela análise de RMN 2D (gHSQC e gHMBC) pôde-se atribuir os corretos assinalamentos para todos os hidrogênios e carbonos de **G14** (TABELA 21), elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado *3-metoxi-demetoxiguadiscina*.

TABELA 21. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G14**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	143,64 s		
1a	111,61 s		
2	138,94 s		
3	139,23 s		
3a	124,42 s		
3b	118,04 s		
4	19,54 t	2,59 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,80 t	3,60 (2H, m)	3a, 3b ^d 4 e 6 ^a
6a	170,55 s		
7	42,82 s		
7a	143,60 s		
8	124,86 d	7,52 (1H, m)	7, 10, e 11 ^a
9	127,89 d	7,29 (1H, m)	7a, 8, 10 ^d , 11 e 11 ^a
10	126,55 d	7,29 (1H, m)	7a, 8, 10 ^d , 11 e 11 ^a
11	126,82 d	8,18 (1H, m)	1a, 7 ^d , 7a e 9
11a	128,49 s		
(1-2)-OCH ₂ O	101,17 t	6,10 (2H, s)	1 e 2
3-OCH ₃	59,87 q	4,04 (3H, s)	3
7-CH ₃	27,58 q	1,50 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os hidrogênios a J² e J³. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G15** apresentou-se como um sólido amarelado amorfo, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{19}H_{17}NO_2$ deduzida do seu espectro de massas de alta resolução $[M+H]^+$ 292,1284 (calculado 292,1337) (ANEXO I - E9), e confirmada com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C . Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E10) e IV (ANEXO I - E11) de **G15** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros de absorção (IV e UV) do composto **G14**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de 1H (ANEXO I - E12) e ^{13}C (ANEXO I - E13) (400 e 100 MHz, $CDCl_3$), diferenciando de **G14** pela ausência do sinal em δ 4,04 (3-OCH₃) no espectro de 1H correlacionado ao sinal do carbono em δ 59,87, e a presença de um sinal a mais no espectro de 1H em δ 6,68 (1H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 106,97 observado no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E14), e atribuído a H-3/C-3. O sinal deste hidrogênio aromático em δ 6,68 (H-3) localizado no anel A foi confirmado pela análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E15), o qual mostrou correlações a J^3 com o sinal do carbono metilênico em δ 26,37 (H-4) e com o sinal do carbono oxigenado em δ 142,23 (C-1), bem como a J^2 com o sinal do carbono oxigenado em δ 149,66 (C-2), confirmando o grupo metilenodióxi substituído em C-1/C-2 (FIGURA 22, TABELA 22).

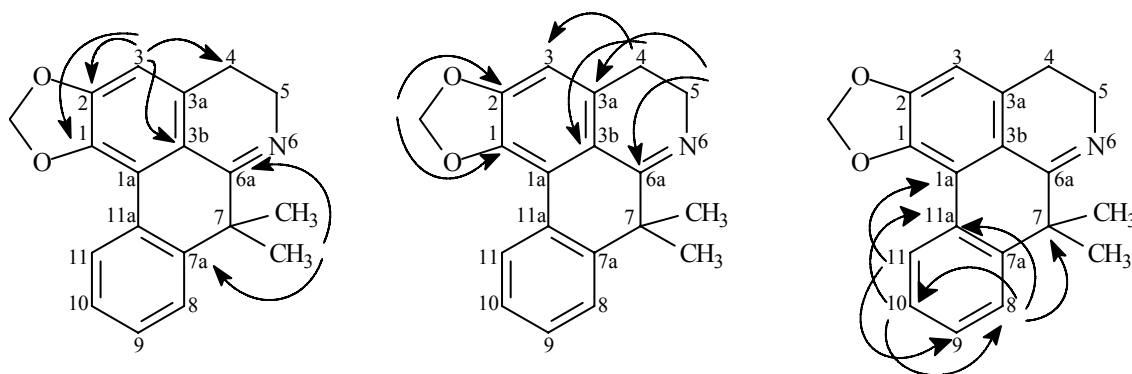


FIGURA 22. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G15**.

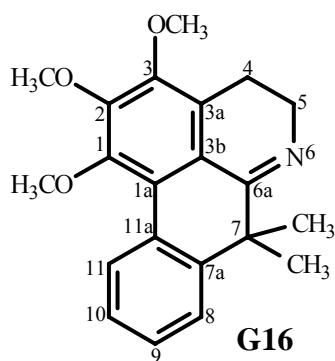
Na TABELA 22 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G15** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura.

O composto **G15** foi então elucidado como sendo o alcalóide 7,7-gemdimetilaporfínico conhecido como *demetoxiguadiscina*, previamente isolado de *Hornschuchia obliqua* (Annonaceae) (FECHINE *et al.*, 2003). Este é o segundo registro do seu isolamento na literatura. Embora tenha sido isolado recentemente, alguns dados de carbonos publicados apresentam algumas ambigüidades, sendo estes corrigidos nesse trabalho.

TABELA 22. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G15**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^d
1	142,23 s	144,0 s			
1a	116,59 s	119,9 s			
2	149,66 s	155,9 s			
3	106,97 d	108,4 d	6,68 (1H, s)	6,83 (1H, s)	1, 2, 3b e 4
3a	133,01 s	136,1 s			
3b	117,66 s	113,8 s			
4	26,37 t	26,3 t	2,60 (2H, m)	3,06 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,98 t	41,3 t	3,64 (2H, m)	3,89 (2H, m)	3a, 3b ^e , 4 e 6a
6a	170,54 s	180,0 s			
7	42,88 s	43,7 s			
7a	144,39 s	140,3 s			
8	124,96 d	125,7 d	7,54 (1H, m)	7,60 (1H, d, 8,0)	7, 7a ^e , 9 ^e , 10 e 11a
9	128,59 d	130,6 d	7,32 (1H, m)	7,45 (1H, dd, 8,0 e 1,8)	7a e 11
10	126,59 d	128,1 d	7,31 (1H, m)	7,42 (1H, dd, 8,0 e 1,8)	8, 9 e 11a
11	127,46 d	128,4 d	8,26 (1H, m)	8,40 (1H, d, 8,0)	1a, 7 ^e , 7a e 9
11a	128,39 s	125,9 s			
(1-2)-OCH ₂ O	101,08 t	102,9 t	6,11 (2H, s)	6,29 (2H, s)	1 e 2
7-CH ₃	27,64 q	29,6	1,52 (6H, s)	1,92 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , DEPT 135 e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com FECHINE *et al.* (2003) (^1H ; 500 MHz, ^{13}C ; 125 MHz, CDCl_3). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os hidrogênios a J² e J³. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G16** apresentou-se como um óleo amarelado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (calculado 337,1678)

deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E16) e IV (ANEXO I - E17), bem como os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E18) e ^{13}C (ANEXO I - E19) (400 e 100 MHz, CDCl_3) de **G16** apresentaram similaridades quando comparados com os dados do composto **G14**. Pela análise do espectros de RMN de ^1H e ^{13}C observou-se que o composto **G16** diferencia-se de **G14** pela ausência do grupo metilenodióxi e a presença de dois grupos metoxílicos em δ 3,81 (3H, s) e δ 3,91 (3H, s) correlacionados aos carbonos δ 60,90 e δ 60,97, respectivamente no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E20) localizados no anel A do esqueleto 7,7-dimetilaporfínico (TABELA 23).

O sinal do grupo metoxílico em δ 3,81 apresentou correlação a J^3 com o sinal do carbono em δ 150,04 no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E21), e foi atribuído a substituição em C-1 de acordo com GUINAUDEAU *et al.* (1983) e experimentos realizados (NOE 1D) em outros compostos elucidados verificando que o grupo metoxílico substituído nesse carbono (C-1) sempre apresenta menor deslocamento químico, provavelmente devido ao efeito de blindagem do anel D. Eventualmente o sinal do grupo metoxílico em δ 3,91 correlacionado a J^3 com o sinal do carbono em δ 149,36 no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E21), foi atribuído à substituição em C-2, uma vez que o sinal do grupo metoxílico em δ 4,02 já havia sido atribuído a substituição em C-3 baseado no modelo de **G14** e na análise do mapa de contorno gHMBC (FIGURA 24, TABELA 23).

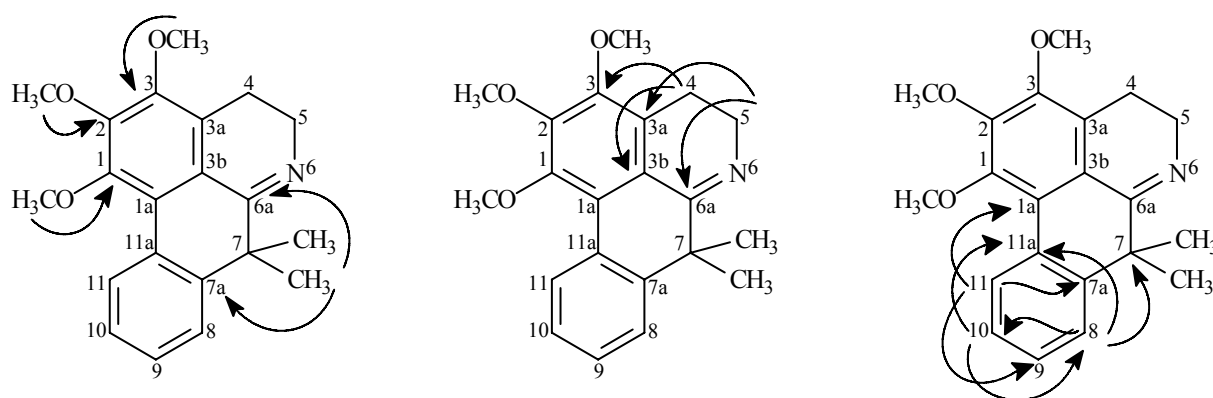


FIGURA 23. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G16**.

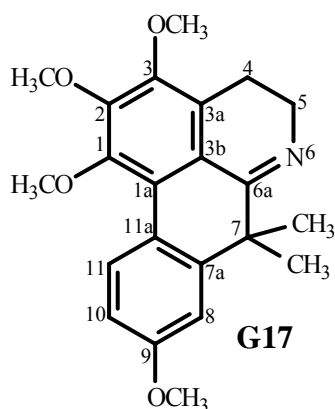
Na TABELA 23 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G16** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo

um alcalóide inédito do tipo 7,7-*gem*dimetilaporfínico denominado 4-*desidroxi*gatteriopsiscina.

TABELA 23. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G16**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	<i>g</i> HMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	150,04 s		
1a	122,89 s		
2	149,36 s		
3	149,36 s		
3a	127,04 s		
3b	120,18 s		
4	19,78 t	2,62 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,49 t	3,61 (2H, m)	3a, 3b ^d , 4 e 6a
6a	171,37 s		
7	42,54 s		
7a	143,71 s		
8	124,47 d	7,51 (1H, m)	7, 7a ^d , 10 e 11a
9	127,99 d	7,29 (1H, m)	7a, 8, 10 ^d e 11 e 11a
10	126,69 d	7,29 (1H, m)	7a, 8, 10 ^d e 11 e 11a
11	127,91 d	8,46 (1H, m)	1a, 7 ^d , 7a e 9
11a	129,88 s		
1-OCH ₃	60,90 q	3,81 (3H, s)	1
2-OCH ₃	60,97 q	3,91 (3H, s)	2
3-OCH ₃	61,14 q	4,02 (3H, s)	3
7-CH ₃	27,16 q	1,49 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G17** apresentou-se como um óleo amarelado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ (calculado 367,1783) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E22) e IV (ANEXO I - E23) de **G17** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros no UV e IV de **G16**. O mesmo foi observado para os espectros

de RMN de ^1H (ANEXO I - E24) e ^{13}C (ANEXO I - E25) (400 e 100 MHz, CDCl_3) diferenciando de **G16** pela presença de um sinal de grupo metoxílico em δ 3,86 (3H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 55,22 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E26), bem como a ausência de um sinal de hidrogênio aromático, sugerindo uma provável substituição no anel D. A presença de um sistema ABX foi evidenciada pelos sinais dos hidrogênios em δ 8,43 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), δ 7,06 (1H, d, $J = 2,7$ Hz) e δ 6,82 (1H, d, $J = 8,8$ Hz e 2,7 Hz) correlacionados aos carbonos δ 129,35, δ 111,04 e δ 110,94 no mapa de contorno gHSQC, atribuídos respectivamente a H-11/C-11, H-8/C-8 e H-10/C10, indicando uma substituição no C-9 do anel D (TABELA 24).

A substituição no anel D de **G17** foi confirmada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E27) devido à correlação do sinal em δ 8,43 (H-11) a J^3 com o sinal do carbono em δ 159,14 (C-9) portador do grupo metoxílico em δ 3,86 (9-OCH₃) no espectro de RMN de ^1H . O sinal de H-8 (δ 7,06) mostrou correlação a J^3 com o sinal de C-7 (δ 42,72) e a J^2 com C-9 (δ 159,14), e o sinal de H-10 (δ 6,82) evidenciou correlação a J^3 com o sinal de C-8 (δ 111,04) e a J^2 com o sinal de C-9 (δ 159,14), confirmando assim a substituição em C-9 (FIGURA 24, TABELA 24). Observou-se também que o sinal do grupo metoxílico substituído em C-3 de **G17** apresentou menor deslocamento químico quando comparado com o sinal do grupo metoxílico substituído em C-3 de **G16**. O mesmo foi observado para a substituição em C-2 de **G17**, porém com deslocamento químico maior, provavelmente devido à substituição no anel D (FIGURA, 23, TABELA 24).

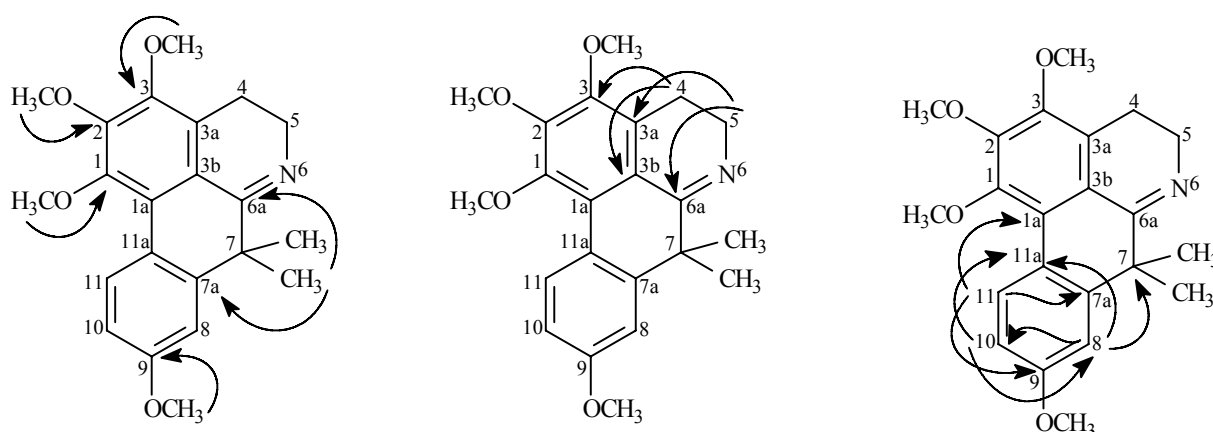


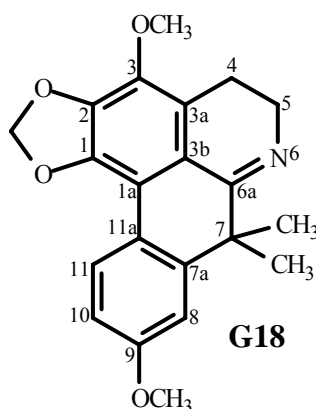
FIGURA 24. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G17**.

Na TABELA 24 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G17** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando **G17** como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado 9-metoxi-4-desidroxiguatteripiscina.

TABELA 24. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G17**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	149,33 s		
1a	122,90 s		
2	149,28 s		
3	148,58 s		
3a	127,02 s		
3b	119,60 s		
4	19,79 t	2,60 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,67 t	3,59 (2H, m)	3a, 3b ^d , 4 e 6a
6a	171,02 s		
7	42,72 s		
7a	146,08 s		
8	111,04 d	7,06 (1H, d, 2,7)	7, 7a ^d , 9, 10 e 11a
9	159,14 s		
10	110,94 d	6,82 (1H, dd, 8,8 e 2,7)	8, 9 e 11a
11	129,35 d	8,43 (1H, d, 8,8)	1a, 7 ^d , 7a, 9 e 10 (f)
11a	122,68 s		
1-OCH ₃	60,69 q	3,79 (3H, s)	1
2-OCH ₃	61,11 q	4,02 (3H, s)	2
3-OCH ₃	60,97 q	3,89 (3H, s)	3
9-OCH ₃	55,22 q	3,86 (3H, s)	9
7-CH ₃	27,18 q	1,47 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G18** apresentou-se como um óleo amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (calculado 351,1470) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros de absorção

na região do UV (ANEXO I - E28) e IV (ANEXO I - E29) de **G18** apresentaram similaridades quando comparados com os espectros no UV e IV de **G14**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E30) e ^{13}C (ANEXO I - E31) (400 e 100 MHz, CDCl_3) diferenciando de **G14** pela presença de um sinal de grupo metoxílico a mais na molécula em δ 3,85 (3H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 55,28 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E32), bem como a ausência de um sinal de hidrogênio aromático, sugerindo uma provável substituição no anel D. A presença de um sistema ABX similar a **G17** foi evidenciada pelos sinais dos hidrogênios em δ 8,13 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), δ 7,07 (1H, d, $J = 2,7$ Hz) e δ 6,82 (1H, d, $J = 8,8$ Hz e $2,7$ Hz) correlacionados aos carbonos δ 128,23, δ 111,42 e δ 111,03 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E32), atribuídos respectivamente a H-11/C-11, H-8/C-8 e H-10/C10, indicando uma substituição no anel D (TABELA 25).

Assim como observado para **G17**, a substituição no anel D de **G18** foi confirmada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E33) devido à correlação do sinal em δ 8,43 (H-11) a J^3 com o sinal do carbono em δ 159,24 (C-9) substituído pelo grupo metoxílico em δ 3,85 (9-OCH₃) no espectro de RMN de ^1H (FIGURA 25, TABELA 25).

Na TABELA 24 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G18** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando **G18** como sendo um novo alcalóide do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado *3-metoxiguadiscina*.

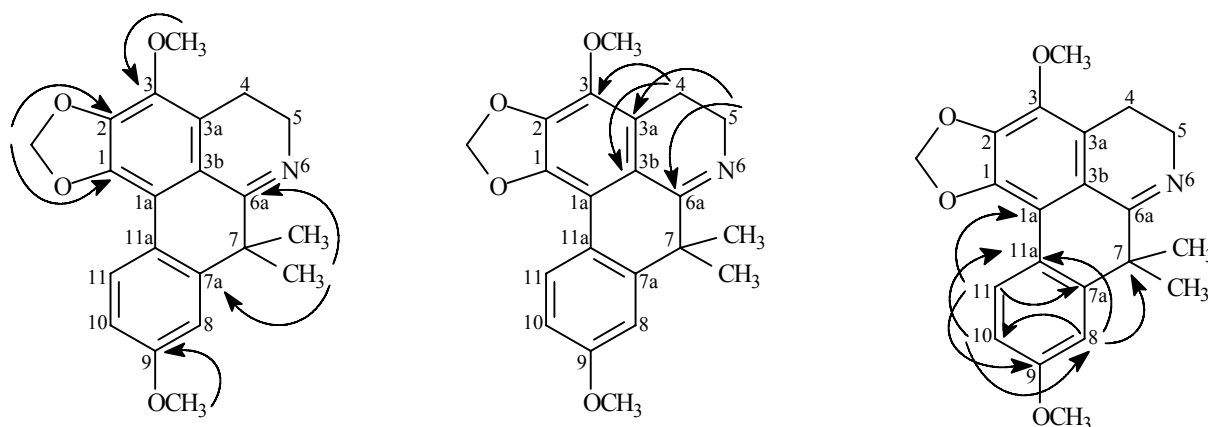


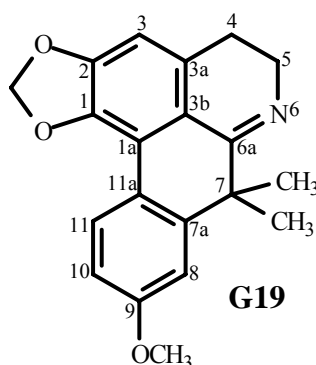
FIGURA 25. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G18**.

TABELA 25. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G18**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	142,83 s		
1a	111,83 s		
2	139,10 s		
3	138,56 s		

3a	124,45 s		
3b	117,47 s		
4	19,57 t	2,58 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,87 t	3,59 (2H, m)	3a, 3b ^d 4 e 6a
6a	170,50 s		
7	43,06 s		
7a	145,84 s		
8	111,42 d	7,07 (1H, d, 2,6)	7, 7a ^d , 9 ^d , 10, e 11a
9	159,24 s		
10	111,03 d	6,82 (1H, dd, 8,6 e 2,6)	8, 9 ^d e 11a
11	128,23 d	8,13 (1H, d, 8,6)	1a, 7 ^d , 7a e 9
11a	121,41 s		
(1-2)-OCH ₂ O	101,10 t	6,09 (2H, s)	1 e 2
3-OCH ₃	59,93 q	4,01 (3H, s)	3
9-OCH ₃	55,28	3,85 (3H, s)	9
7-CH ₃	27,62 q	1,48 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G19** apresentou-se como sólido amorfo amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₀H₁₉NO₃ (calculado 321,1365) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Pela fórmula molecular deduzida provavelmente os compostos **G19** e **G14** tratam-se de regioisômeros.

Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E34) e IV (ANEXO I - E35) de **G19** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros no UV e IV de **G14** e **G18**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E36) e ¹³C (ANEXO I - E37) (400 e 100 MHz, CDCl₃) de **G14** e **G18** diferenciando de **G18** pela presença de um sinal de hidrogênio aromático em δ 6,62 (1H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 106,14 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E38), bem como a ausência de um sinal de grupo metoxílico em torno de δ 4,01 (3H, s) típico de grupo metoxílico substituído em C-3, indicando que C-3 não apresenta substituição (carbono aromático hidrogenado).

A presença do sinal do hidrogênio aromático em C-3 foi confirmada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E39) devido à correlação a J^3 do sinal em δ 6,62 (H-3) com os sinais dos carbonos em δ 141,52 (C-1), δ 117,09 (C-3b) e δ 46,23 (C-4) (FIGURA 26, TABELA 26).

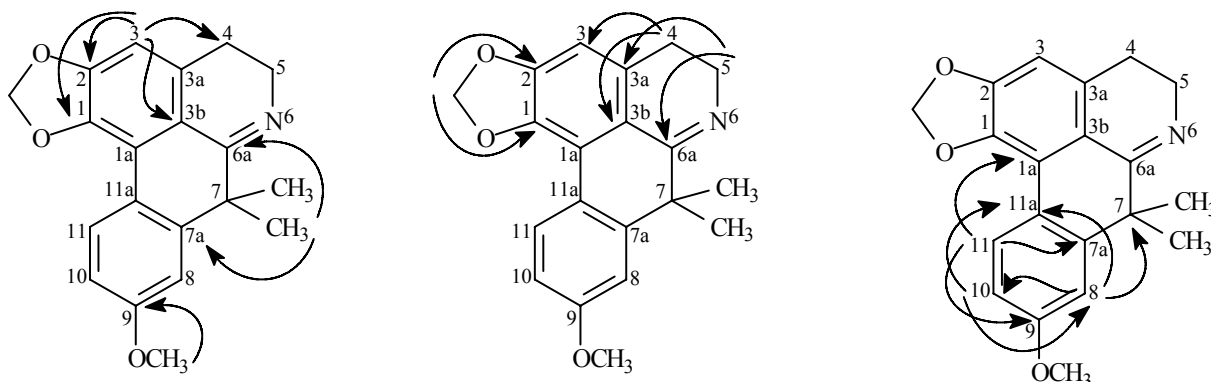


FIGURA 26. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G19**.

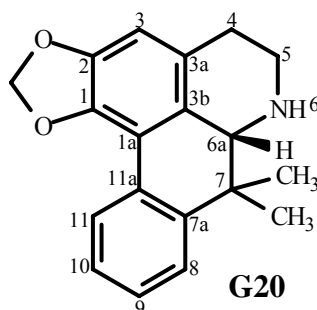
Na TABELA 26 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G19** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura (GUINAUDEAU *et al.*, 1983), elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico conhecido como *guadiscina*. Este composto é bastante encontrado em espécies do gênero *Guatteria* (GUINAUDEAU *et al.*, 1983; PELLETIER, 1987), podendo ser considerado um marcador quimiotaxonômico desse gênero.

TABELA 26. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G19**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^c	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,d}
1	141,52 s	141,4 s			
1a	116,75 s	116,6 s			
2	149,61 s	149,4 s			
3	106,14 d	106,0 d	6,62 (1H, s)	6,60 (1H, s)	1, 2 ^e , 3b e 4
3a	133,05 s	132,9 s			
3b	117,09 s	117,0 s			
4	26,43 t	26,3 t	2,57 (2H, m)	2,57 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,99 t	47,0 t	3,62 (2H, m)	3,65 (2H, m)	3a, 3b ^e , 4 e 6 ^a
6a	170,48 s	170,3 s			
7	43,12 s	42,3 s			
7a	146,55 s	146,5 s			
8	111,48 d	110,9 d	7,09 (1H, d, 2,6)	7,08 d (1H, d, 2,8)	7, 7a ^e , 9, 10 e 11a
9	159,74 s	159,6 s			
10	111,06 d	114,4 d	6,84 (1H, dd, 8,7 e 2,6)	6,83 (1H, dd, 9,0 e 2,8)	7a ^e , 8, 9 e 11 ^a
11	128,98 d	128,8 d	8,20 (1H, d, 8,7)	8,18 (1H, d, 9,0)	1a, 7 ^e , 7a 8 ^e e 9
11a	121,26 s	121,2 s			
(1-2)-OCH ₂ O	100,99 t	100,8 t	6,09 (2H, s)	6,07 (2H, s)	1 e 2
9-OCH ₃	55,29 q	55,2 q	3,86 (3H, s)	3,88 (3H, s)	9

7-CH ₃	27,69 q	27,6 q	1,49 (6H, s)	1,50 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃
-------------------	---------	--------	--------------	--------------	-------------------------------

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com GUINAUDEAU *et al.* (1983). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G20** apresentou-se como sólido amorfo amarelo pálido, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₉H₁₉NO₂ deduzida do seu espectro de massas de alta resolução [M+H]⁺ 294,1470 (calculado 294,1494) (ANEXO I - E40), e confirmada com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C.

Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E41) e IV (ANEXO I - E42) de **G20** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros no UV e IV de **G14** e **G15**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E43 e E44) e ¹³C (ANEXO I - E45) (400 e 100 MHz, CDCl₃) diferenciando de **G15** pela presença de um sinal em δ 3,81 (1H, s) no espectro de ¹H correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,07 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E46), característico de H-6a/C-6a, indicando que não há uma ligação dupla entre N-6 e C-6a, sugerindo uma estrutura com o esqueleto 6,6a-diidro-7,7-dimetilaporfino, o qual foi confirmado pela ausência do sinal entre δ 170-172 no espectro de ¹³C (ANEXO I - E45). A ausência desta ligação dupla foi ainda reforçada pela presença dos sinais dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-4 em δ 2,91 (1H, m, H-4_{Pseudoeq}) / δ 2,59 (1H, m H-4_{Pseudoax}), e H-5 em δ 3,38 (1H, m, H-5_{Pseudoeq}) / δ 2,98 (1H, td, 11,9 e 3,0 Hz, H-5_{Pseudoax}) (TABELA 27).

Verificou-se também que os hidrogênios do grupo metilenodióxi substituído em C-1/C-2 apresentaram deslocamento químicos diferentes na forma de dubletos (J = 1,3 Hz) em δ 5,92 (1H) e δ 6,07 (1H), devido a torção dos anéis A e D, causada pela ausência da ligação dupla entre C-6a e N-6. O mesmo foi observado para os grupos metílicos substituídos em C-7 em δ 0,92 e δ 1,52 no espectro de ¹H correlacionados aos sinais dos carbonos em δ 21,57 e δ 23,33, atribuídos respectivamente a 7-CH₃_{Pseudoax} e 7-CH₃_{Pseudoeq} (TABELA 27).

A presença de H-6a em **G20** foi evidenciada devido à correlação a J³ no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E47) do sinal em δ 3,81 (H-6a) com os sinais dos carbonos em δ 116,06 (C-1a), δ 128,03 (C-3a), δ 43,36 (C-5), δ 21,57 (7-CH₃Pseudoax), δ 23,33 (7-CH₃Pseudoeq) e δ 144,78 (C-7a) (FIGURA 27, TABELA 27).

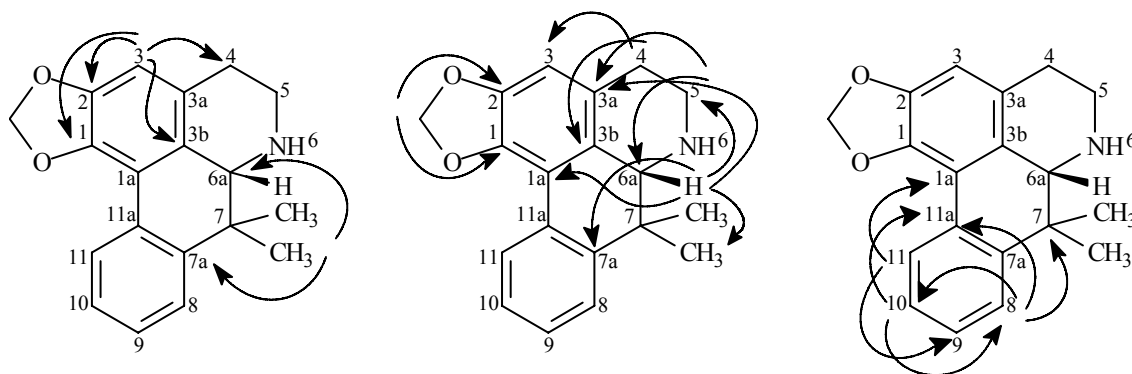


FIGURA 27. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G20**.

A configuração absoluta do centro quiral C-6a de **G20** foi estabelecida como sendo **R** através da análise da curva de dicroísmo circular (cd) que mostrou um efeito “Cotton” negativo em 232 nm (RINGDAHL *et al.*, 1981).

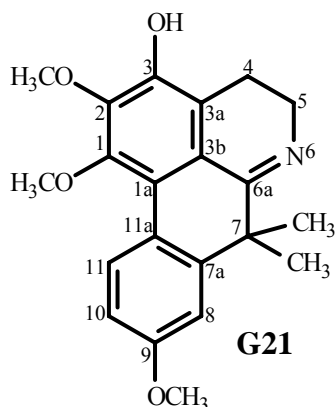
Na TABELA 27 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G20** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado 6,6a-diidrodemetoxiguadiscina.

TABELA 27. Dados de RMN de ¹H e ¹³C para **G20**^a

Posição	¹³ C (δ) ^{a,b}	¹ H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (¹ H- ¹³ C) ^{a,c}
1	142,10 s		
1a	116,06 s		
2	146,57 s		
3	107,92 d	6,56 (1H, s)	1, 1a ^d , 2 ^d , 3b e 4
3a	128,03 s		
3b	126,43 s		
4Pseudoax		2,59 (1H, m)	3, 3a, 3b e 5
4Pseudoeq	29,56 t	2,91 (1H, m)	3a, 3b e 5
5Pseudoax		2,98 (1H, td, 11,9 e 3,0)	3a, 3b ^d , 4 e 6a
5Pseudoeq	43,36 t	3,38 (1H, m)	3a, 3b ^d , 4 e 6 ^a
6a	61,07 d	3,81 (1H, s)	1 ^d , 1a, 2 ^d , 3 ^d , 3a, 3b, 5, 7, 7-CH ₃ Pseudoax, 7-CH ₃ Pseudoeq, 7a e 11a ^d
7	38,56 s		
7a	144,78 s		
8	123,87 d	7,44 (1H, m)	1a ^d , 7, 7a ^d , 10, 11a
9	127,98 d	7,30 (1H, m)	7a e 11
10	126,53 d	7,29 (1H, m)	8 e 11 ^a
11	127,33 d	8,09 (1H, m)	1a, 7 ^d , 7a, 8 ^d e 9

11a	129,61 s		
(1-2)-OCH ₂ O			
H α		5,92 (1H, d, 1,3)	1 e 2
H β	100,57 t	6,07 (1H, d, 1,3)	1 e 2
7-CH ₃ ^{Pseudoax}	21,57 q	0,92 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoeq} e 7a
7-CH ₃ ^{Pseudoeq}	23,33 q	1,52 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoax} e 7a

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C, DEPT 135 e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G21** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₃NO₄ (calculado 353,1627) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E48) de **G21** observou-se similaridades quando comparado com o espectro no IV de **G17** exceto pela absorção larga em 3416 cm⁻¹ típica de grupo hidroxila fenólica. O espectro de absorção na região do UV de **G21** (ANEXO I - E49) também apresentou similaridades quando comparados com os dados no UV de **G17**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E50) e ¹³C (ANEXO I - E51) (400 e 100 MHz, CDCl₃), diferindo de **G17** pela ausência do sinal do grupo metoxílico em δ 3,89 no espectro de ¹H e em δ 60,97 no espectro de ¹³C. Porém observou-se que **G21** possui outro grupo substituinte, provavelmente um grupo hidroxila, de acordo com a análise na região de absorção do IV, o qual não foi observado no espectro de ¹H, atribuído a substituição em C-3 com base no modelo de **G17** (TABELA 28).

A presença do grupo hidroxila em **G21** foi evidenciada devido ao sinal do carbono em δ 144,45 (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E52), bem como nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E53), porém observou-se a correlação a J³ deste sinal (δ 144,45) com o sinal dos hidrogênios metilênicos em δ 2,63 (H-4). A substituição em C-3 foi reforçada pela análise de

NOE 1D (ANEXO I - E54), em que a irradiação do sinal em δ 2,63 (H-4) apresentou correlação apenas com o sinal em δ 3,63 (H-5). Também foi possível através de medidas de NOE confirmar o correto assinalamento do grupo metoxílico substituído em C-1, em que a irradiação do sinal em δ 8,37 (H-11) mostrou correlação com os sinais em δ 3,77 (1-OCH₃) e δ 6,82 (H-10) (FIGURA 28, TABELA 28).

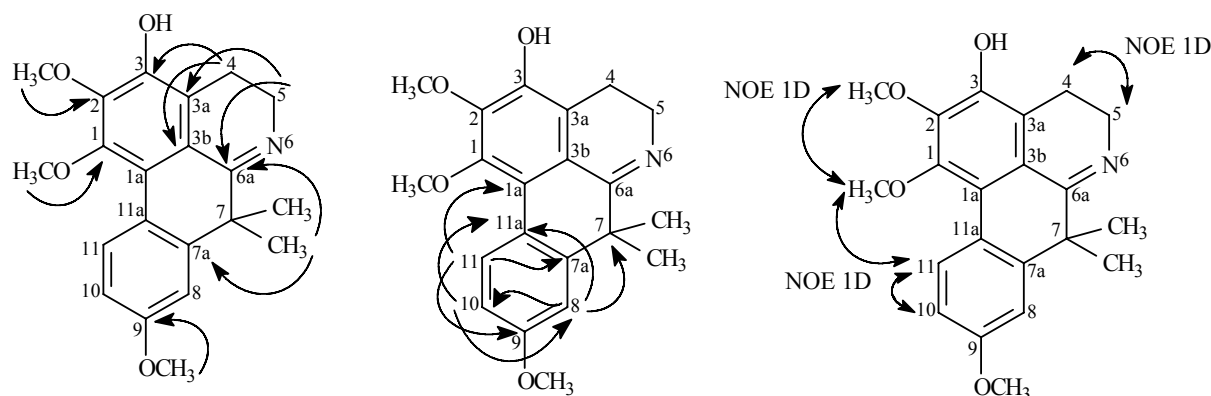


FIGURA 28. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G21**.

Deve-se ressaltar a presença do sinal do grupo metoxílico substituído em C-9 em δ 55,23 no espectro de ¹³C e δ 3,86 no espectro de ¹H de **G21**. Quando comparado com os valores de ¹H e ¹³C dos compostos **G17**, **G18** e **G19**, verificou-se que todos apresentam praticamente o mesmo deslocamento químico entre δ 3,87 - δ 3,85 no espectro de ¹H e em torno de δ 55,0 no espectro de ¹³C de acordo com as informações contidas nos mapas de contorno gHSQC e gHMBC desses compostos, sendo então estes considerados deslocamentos químicos característicos de grupo metoxílico substituído em C-9 presentes nesse tipo de esqueleto.

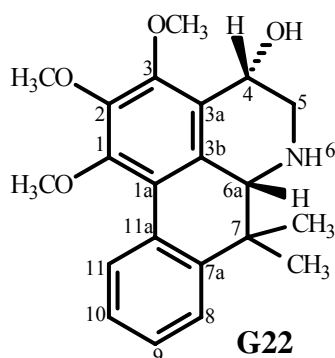
Na TABELA 28 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G21** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado *guatterioliscina*.

TABELA 28. Dados de RMN de ¹H e ¹³C para **G21**^a

Posição	¹³ C (δ) ^{a,b}	¹ H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (¹ H- ¹³ C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	148,05 s			
1a	119,56 s			
2	142,75 s			
3	144,45 s			
3a	119,69 s			

3b	119,65 s			
4	19,35 t	2,63 (2H, m)	3, 3b e 5	5
5	46,37 t	3,63 (2H, m)	3a, 4 e 6a	
6a	171,54 s			
7	42,84 s			
7a	145,39 s			
8	111,00 d	7,06 (1H, d, 2,7)	7, 7a ^e , 9 ^e , 10 e 11a	
9	158,81 s			
10	111,00 d	6,82 (1H, dd, 8,8 e 2,7)	8, 9 ^e e 11a	
11	128,86 d	8,37 (1H, d, 8,8)	1a, 7 ^e , 7a, 9 e 10 ^e	1-OCH ₃ e 10
11a	122,81 s			
1-OCH ₃	60,36 q	3,77 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,22 q	4,05 (3H, s)	2	1-OCH ₃
3-OH				
9-OCH ₃	55,23 q	3,86 (3H, s)	9	
7-CH ₃	27,20 q	1,49 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G22** apresentou-se como um sólido branco cristalino, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₅NO₄ deduzida do seu espectro de massas de alta resolução [M+H]⁺ 356,2095 (calculado 356,1862) (ANEXO I - E55), e confirmada com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Ainda pelo espectro de massas verificou-se um fragmento em *m/z* 338,1798 [(M + H) - 18]⁺, sugerindo a presença de um grupo hidroxila, evidenciado também pela análise na região do IV (ANEXO I - E56) devido à absorção larga em 3435 cm⁻¹. Pelo espectro de absorção na região do UV (ANEXO I - E57) observou-se a absorções (λ_{max}) em 214, 219 e 278 nm, típicas de esqueleto do tipo 7,7-dimetiltetraidroaporfino (GUINAUDEAU *et al.*, 1983).

Pelas análises dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E58) e ¹³C (ANEXO I - E59) (400 e 100 MHz, CDCl₃) de **G22**, verificou-se similaridades quando comparado com os espectros de RMN de **G16**, diferindo deste pela presença de um grupo hidroxila substituído em C-4,

devido ao sinal em δ 4,80 (1H, t, $J = 2,0$ Hz) (GUINADEAU *et al.*, 1983, 1988) no espectro de ^1H , correlacionado ao sinal do carbono em δ 60,86 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E60), bem como a presença de um sinal δ 3,56 (1H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,45 típico de H-6a/C-6a, indicando que não há uma ligação dupla entre C-6a e N-6 (TABELA 29), conforme observado para **G20**. Observou-se também que os sinais dos hidrogênios metilênicos de H-5 em δ 2,95 (1H, H-5_{Pseudoax}) e em δ 3,39 (1H, H-5_{Pseudoeq}) apresentaram-se na forma de duplos dubletos ($J = 12,4$ e $2,0$ Hz), evidenciando ainda mais a substituição do grupo hidroxila em C-4 (TABELA 29). Os sinais dos grupos metílicos substituídos em C-7 foram similares aos sinais de **G20**.

A substituição em C-4 foi confirmada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E61) devido à correlação a J^3 do sinal em δ 4,80 (H-4) com os sinais dos carbonos em δ 151,32 (C-3) e em δ 130,86 (C-3b) (FIGURA 29, TABELA 29).

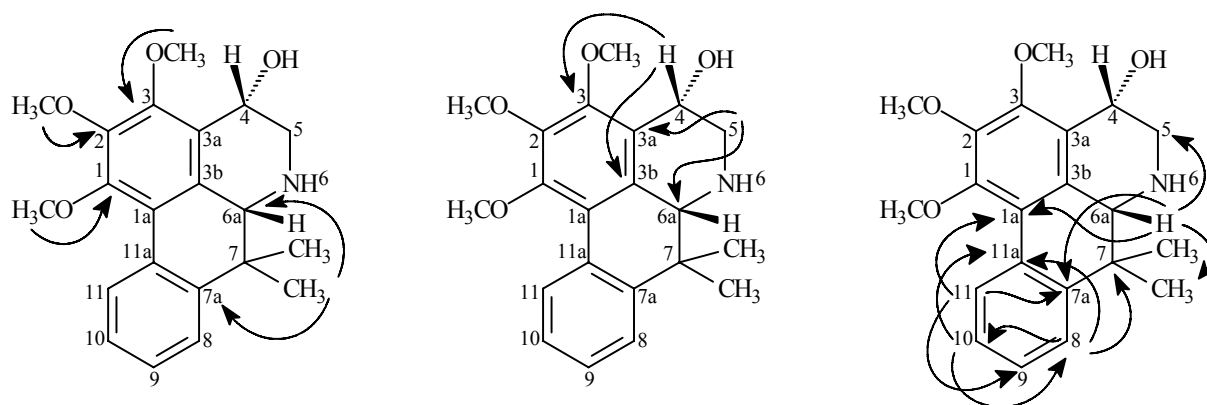


FIGURA 29. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G22**.

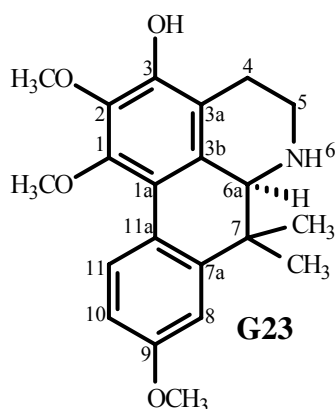
A configuração absoluta do centro quiral C-6a de **G22** foi estabelecida como sendo *R* através da análise da curva de dicroísmo circular (cd) que mostrou um efeito “Cotton” negativo em 236 nm (RINGDAHL *et al.*, 1981). Conseqüentemente a configuração absoluta do centro quiral C-4 de **G22** foi determinada por experimentos de NOE 1D. No espectro de RMN de ^1H , o sinal de H-4 na forma de um tripleto, juntamente com seu relativo deslocamento em campo alto, denotou uma relação “*syn*” entre H-4 e H-6a. A correlação dos sinais em δ 3,56 (H-6a) com δ 1,49 (7-CH₃_{Pseudoeq}) e δ 2,95 (H-5_{Pseudoax}), em δ 3,39 (H-5_{Pseudoeq}) com δ 2,95 (H-5_{Pseudoax}) e δ 4,80 (H-4), e em δ 4,80 (H-4) com δ 2,95 (H-5_{Pseudoax}), δ 3,39 (H-5_{Pseudoeq}) e δ 4,03 (3-OCH₃) confirmaram a relação “*syn*” entre H-4 e H-6a (TABELA 29). Assim a configuração absoluta do centro quiral C-4 de **G22** foi determinada como *S*.

Na TABELA 29 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G22** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado *guatteriopiscina*.

TABELA 29. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G22**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	151,19 s			
1a	121,97 s			
2	145,43 s			
3	151,32 s			
3a	126,42 s			
3b	130,86 s			
4	60,86 t	4,80 (1H, t, 2,0)	3, 3a e 3b	5 _{Pseudoax} , 5 _{Pseudoeq} e 3-OCH ₃
5 _{Pseudoax}		2,95 (1H, dd, 12,4 e 2,0)	3a, 4 e 6a	H-4 e 5 _{Pseudoeq}
5 _{Pseudoeq}	50,05 t	3,39 (1H, dd, 12,4 e 2,0)	3a, 4 e 6a	H-4 e 5 _{Pseudoax}
6a	61,45 d	3,56 (1H, s)	1 ^e , 1a, 2 ^e , 3 ^e , 3a, 3b, 5, 7, 7-CH ₃ _{Pseudoax} , 7-CH ₃ _{Pseudoeq} e 7a	5 _{Pseudoax} e 7-CH ₃ _{Pseudoeq}
7	37,79 s			
7a	144,76 s			
8	123,43 d	7,42 (1H, m)	7, 7a ^e , 10, 11 ^e e 11a	
9	127,49 d	7,28 (1H, m)	7a e 11	
10	126,39 d	7,27 (1H, m)	8 e 11a	
11	128,04 d	8,24 (1H, m)	1a, 7a, 8 ^e , 9 e 11a ^e	1-OCH ₃ e H-10
11a	130,14 s			
1-OCH ₃	60,59 q	3,71 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	60,94 q	3,97 (3H, s)	2	
3-OCH ₃	61,45 q	4,03 (3H, s)	3	
4-OH				
7-CH ₃ _{Pseudoax}	20,84 q	0,89 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ _{Pseudoeq} e 7a	7-CH ₃ _{Pseudoeq}
7-CH ₃ _{Pseudoeq}	23,27 q	1,49 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ _{Pseudoax} e 7a	H-6a, 7-CH ₃ _{Pseudoax} e H-8

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , DEPT 135 e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G23** apresentou-se como um sólido amorfo amarelado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₅NO₄ (calculado

355,1783) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E62) e IV (ANEXO I - E63) de **G23** apresentaram algumas similaridades quando comparado com os espectros no UV de **G20**, e IV de **G21**, bem como os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E64) e ^{13}C (ANEXO I - E65) (400 e 100 MHz, CDCl_3), diferindo de **G21** pela presença de um sinal δ 3,68 (1H, s) no espectro de ^1H correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,18 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E66), típico de H-6a/C-6a, indicando a ausência da ligação dupla entre C-6a e N-6, que foi ainda evidenciada pela ausência do sinal entre δ 170-172 no espectro de ^{13}C (TABELA 30). Os sinais dos hidrogênios metilênicos H-4 e H-5 assim como os grupos metílicos substituídos em C-7 apresentaram deslocamentos químicos muito próximos daqueles observados para **G20**, reforçando uma estrutura do tipo 6,6a-diidro-7,7-dimetilaporfino.

Assim como observado para **G20**, a presença de H-6a em **G23** foi evidenciada devido à correlação a J^3 no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E67) do sinal em δ 3,68 (H-6a) com os sinais dos carbonos em δ 118,49 (C-1a), δ 129,72 (C-3a), δ 42,64 (C-5), δ 20,86 (7- CH_3 _{Pseudoax}), δ 23,42 (7- CH_3 _{Pseudoeq}) e δ 146,61 (C-7a) (FIGURA 30, TABELA 30).

Pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E68) pôde-se confirmar os corretos assinalamentos dos grupos metoxílicos e hidroxila (FIGURA 30, TABELA 30), o qual observou-se características similares quando comparado com a análise de NOE 1D de **G21**.

Baseando-se nos modelos de **G20** e **G22**, e comparações como os dados descritos na literatura RINGDAHL *et al.* (1981), pôde-se determinar a configuração absoluta do centro quiral C-6a de **G23** como sendo *S*.

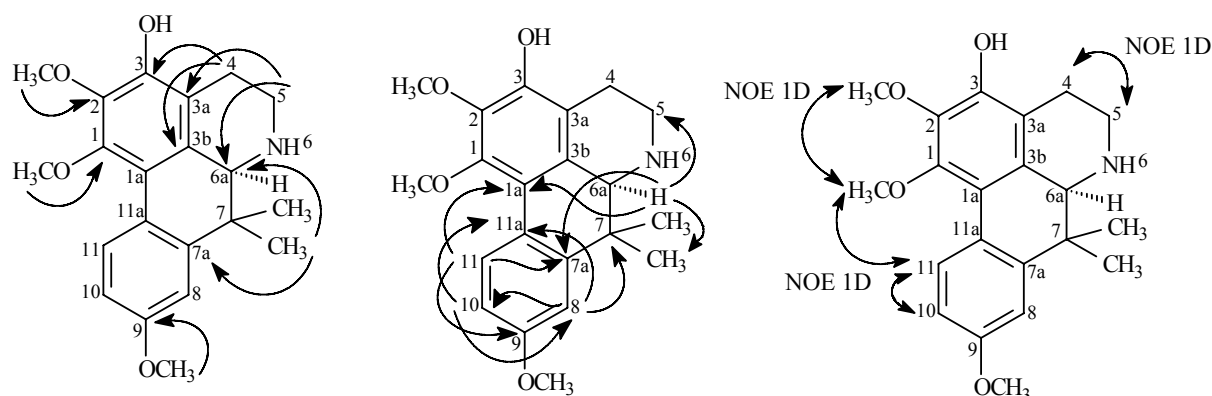


FIGURA 30. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G23**.

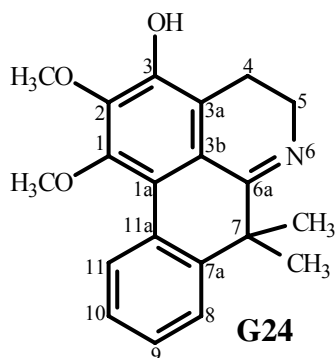
Na TABELA 30 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G23** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE

1D, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-*gem*dimetilaporfínico denominado 6,6a-diidroguatterioliscina.

TABELA 30. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G23**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	147,66 s			
1a	118,49 s			
2	138,56 s			
3	145,65 s			
3a	129,72 s			
3b	117,44 s			
4 ^{Pseudoax}				
4 ^{Pseudoeq}	23,36 t	2,75 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5	H-5ax e H-5eq
5 ^{Pseudoax}		2,93 (1H, ddd, 11,9, 10,4 e 5,7)	3b, 4 e 6a	
5 ^{Pseudoeq}	42,64 t	3,47 (1H, dt, 11,9 e 3,4)	3b, 4 e 6 ^a	
6a	61,18 d	3,68 (1H, s)	1, 1a, 2 ^e , 3, 3a, 3b, 5, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoax} , 7-CH ₃ ^{Pseudoeq} e 7a	
7	38,31 s			
7a	146,41 s			
8	109,98 d	6,96 (1H, d, 2,7)	1a ^e , 7, 7a ^e , 9, 10, e 11a	
9	158,40 s			
10	110,64 d	6,81 (1H, dd, 8,7 e 2,7)	7a ^e , 8, 9 e 11 ^a	
11	129,04 d	8,17 (1H, d, 8,7)	1a, 7 ^e , 7a, 8 ^e , 9 e 10	1-OCH ₃ e H-10
11a	123,49 s			
1-OCH ₃	60,14 q	3,67 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,31 q	3,99 (3H, s)	2	1-OCH ₃
3-OH				
9-OCH ₃	55,18 q	3,85 (3H, s)	9	
7-CH ₃ ^{Pseudoax}	20,86 q	0,88 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoeq} e 7a	
7-CH ₃ ^{Pseudoeq}	23,42 q	1,49 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoax} e 7a	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G24** apresentou-se como um sólido amorfo amarelado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ (calculado 323,1521) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E69) de **G24** observou-se similaridades quando comparado com o espectro no IV de **G16**, exceto pela absorção larga em 3392 cm^{-1} típica de grupo hidroxila fenólica. O espectro de absorção na região do UV de **G24** (ANEXO I - E70) também apresentou algumas similaridades quando comparados com os dados no UV de **G16**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E71) e ^{13}C (ANEXO I - E72) (400 e 100 MHz, CDCl_3), diferindo de **G16** pela ausência do sinal do grupo metoxílico em $\delta\ 4,02$ no espectro de ^1H e em $\delta\ 61,26$ no espectro de ^{13}C (TABELA 31). Porém observou-se que **G24** possui um outro substituinte, provavelmente um grupo hidroxila, de acordo com a análise do espectro na região de absorção do IV, o qual não foi observado no espectro de ^1H , atribuído a substituição em C-3 com base no modelo de **G16**.

A presença deste grupo hidroxila substituído em C-3 foi evidenciada devido ao sinal do carbono em $\delta\ 145,19$ (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E73, TABELA 31), bem como nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E74), porém observou-se a correlação a J^3 deste sinal ($\delta\ 145,19$) com o sinal dos hidrogênios metilênicos em $\delta\ 2,63$ (H-4). A substituição em C-3 foi reforçada pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E75, TABELA 31), em que a irradiação do sinal em $\delta\ 2,63$ (H-4) apresentou correlação apenas com o sinal em $\delta\ 3,64$ (H-5). Também foi possível através de medidas de NOE confirmar o correto assinalamento do grupo metoxílico substituído em C-1, em que a irradiação do sinal em $\delta\ 8,41$ (H-11) mostrou correlação com os sinais em $\delta\ 3,79$ (1-OCH₃) e $\delta\ 7,27$ (H-10) (FIGURA 31, TABELA 31).

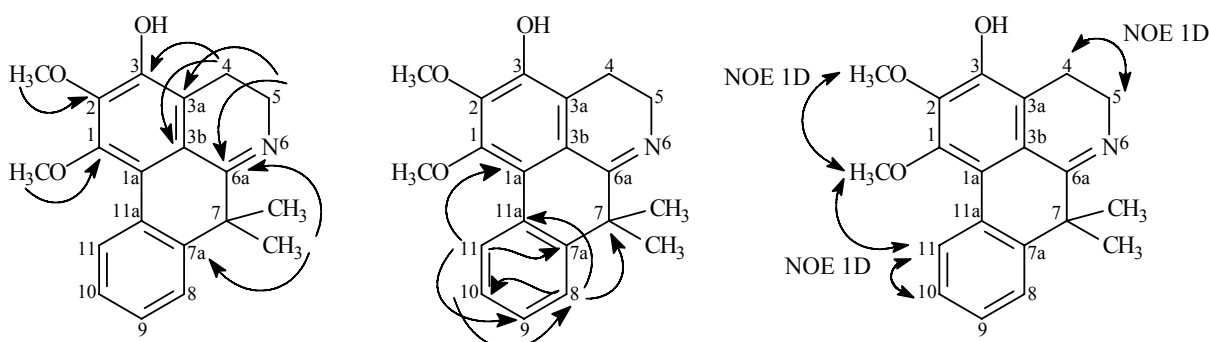


FIGURA 31. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G24**.

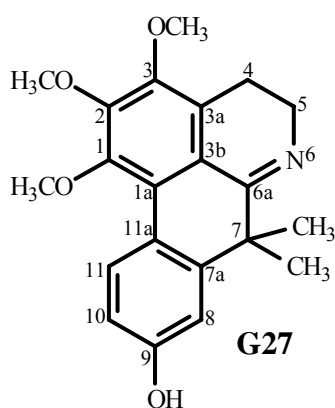
Na TABELA 31 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G24** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE

1D, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado 9-demetoxiguatterioliscina

TABELA 31. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G24**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	148,66 s			
1a	119,55 s			
2	142,76 s			
3	145,19 s			
3a	120,29 s			
3b	119,67 s			
4	19,33 t	2,63 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5	H-5
5	46,23 t	3,64 (2H, m)	3a, 3b ^e , 4 e 6a	
6a	171,79 s			
7	42,64 s			
7a	143,10 s			
8	124,47 d	7,50 (1H, m)	7, 7a ^e , 10 e 11a	
9	127,56 d	7,27 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
10	126,70 d	7,27 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
11	127,48 d	8,41 (1H, m)	1a, 7a e 9	1-OCH ₃ e H-10
11a	130,10 s			
1-OCH ₃	60,57 q	3,79 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,26 q	4,06 (3H, s)	2	1-OCH ₃
3-OH				
7-CH ₃	27,16 q	1,50 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G27** apresentou-se como um sólido amorfo amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (calculado 353,1627) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Pela fórmula molecular deduzida, os compostos **G27** e **G21** tratam-se de regioisômeros. Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E76) e IV (ANEXO I - E77) de **G27** apresentaram algumas similaridades quando comparado com os espectros no IV e UV de **G21**, bem como os

espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E78) e ^{13}C (ANEXO I - E79) (400 e 100 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$), diferindo de **G21** pela provável localização do grupo hidroxila observado no espectro de absorção na região do IV (3436 cm^{-1}). Pela análise dos espectros de ^1H e ^{13}C observou-se ausências dos sinais entre $\delta\ 3,86\text{-}3,85$ no espectro de ^1H e em $\delta\ 56,0\text{-}55,0$ no espectro de ^{13}C , indicando provavelmente que o grupo hidroxila está localizado em C-9 baseando-se no modelo de **G21**.

A presença do grupo hidroxila em **G27** foi evidenciada devido o sinal do carbono em $\delta\ 156,85$ (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E80), bem como nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E81), porém observou-se a correlação a J^3 deste sinal ($\delta\ 156,85$) com o sinal do hidrogênio aromático em $\delta\ 8,33$ (H-11) e a J^2 com os sinais dos hidrogênios aromáticos em $\delta\ 7,00$ (H-8) e em $\delta\ 6,77$ (H-10) (TABELA 32). A substituição em C-9 foi ainda reforçada pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E82), em que a irradiação do sinal em $\delta\ 8,33$ (H-11) apresentou correlação com os sinais em $\delta\ 6,77$ (H-10) e em $\delta\ 3,78$ (1-OCH₃). A irradiação do sinal dos hidrogênios metilênicos em $\delta\ 2,61$ evidenciou correlação com o sinal em $\delta\ 3,89$ (3-OCH₃) confirmando um dos grupos metoxílicos substituído em C-3, e definindo assim o grupo metoxílico em $\delta\ 4,02$ (2-OCH₃) substituído em C-2 (FIGURA 32, TABELA 32).

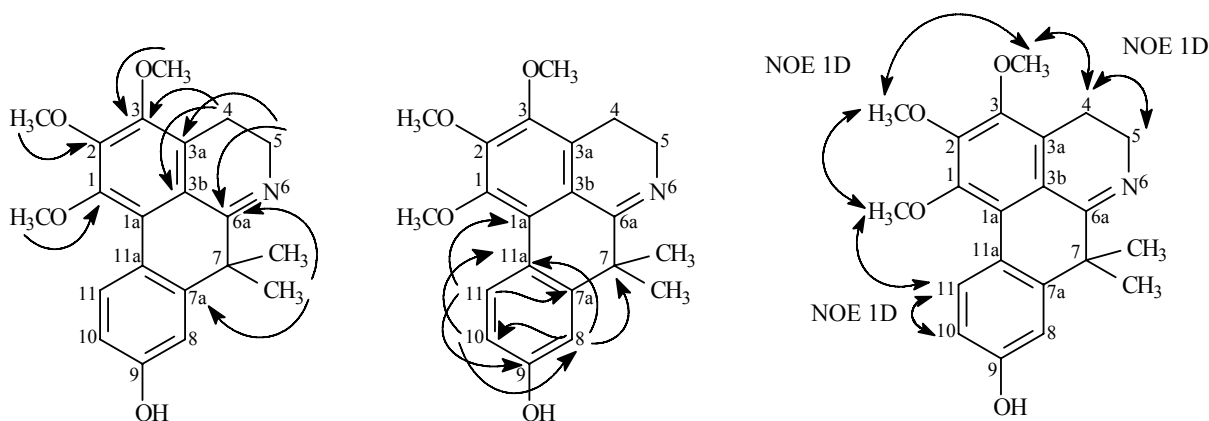


FIGURA 32. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G27**.

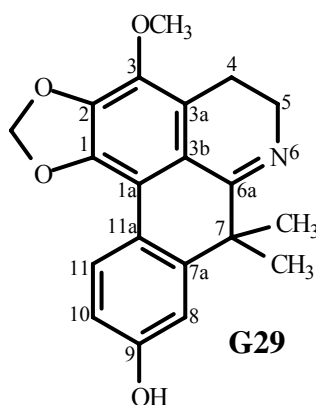
Deve-se ainda ressaltar a polaridade de **G27** solúvel apenas em mistura de clorofórmio e metanol, em relação a **G21** solúvel em clorofórmio, o qual pode ser explicado devido a presença do grupo hidroxila no anel D. Todas as substâncias isoladas neste trabalho que apresentam um grupo hidroxila presente no anel D apresentaram-se solúveis apenas em mistura de clorofórmio e metanol.

Na TABELA 32 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G27** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-*gem*dimetilaporfínico denominado 9-*hidroxi-4-desidroxiguatteriopsiscina*.

TABELA 32. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G27**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	149,29 s			
1 ^a	123,75 s			
2	149,76 s			
3	148,31 s			
3 ^a	127,05 s			
3b	119,47 s			
4	19,84 t	2,61 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5	5 e 3-OCH ₃
5	46,17 t	3,55 (2H, m)	3a, 4 e 6a	
6 ^a	172,88 s			
7	42,83 s			
7 ^a	145,53 s			
8	111,69 d	7,00 (1H, d, 2,6)	7, 9, 10 e 11a	
9	156,85 s			
10	113,58 d	6,77 (1H, dd, 8,7 e 2,6)	8, 9 e 11a	
11	129,63 d	8,33 (1H, d, 8,7)	1a, 7 ^e , 7a, 8 ^e e 9	1-OCH ₃ e 10
11 ^a	121,47 s			
1-OCH ₃	60,72 q	3,78 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,20 q	4,02 (3H, s)	2	1-OCH ₃ e 3-OCH ₃
3-OCH ₃	61,07 q	3,89 (3H, s)	3	
9-OH				
7-CH ₃	27,19 q	1,45 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz, para ^{13}C em CDCl_3 + gotas de CD_3OD , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G29** apresentou-se como um sólido amorfo amarelo-alaranjado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (calculado 337,1314) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E83) de **G29** observou-se similaridades

quando comparado com o espectro no IV de **G18** exceto pela absorção larga em 3432 cm^{-1} típica de grupo hidroxila fenólica. O espectro de absorção na região do UV de **G29** (ANEXO I - E84) também apresentou algumas similaridades quando comparados com os dados no UV de **G18**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E85) e ^{13}C (ANEXO I - E86) (400 e 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD), diferindo de **G18** pela ausência do sinal do grupo metoxílico em δ 3,85 no espectro de ^1H e em δ 55,28 no espectro de ^{13}C , típico de grupo metoxílico substituído em C-9, sugerindo um provável grupo hidroxila substituído nesta posição (TABELA 33), conforme indicado no espectro de absorção na região do IV.

A presença do grupo hidroxila substituído em C-9 foi evidenciada devido ao sinal do carbono em δ 156,92 (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E87), bem como nenhuma correlação com o grupo metoxílico (δ 60,06) no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E88), porém observou-se a correlação a J^3 deste sinal (δ 159,92) com o sinal do hidrogênio aromático em δ 8,04 (H-11), bem como a J^2 com os sinais dos hidrogênios em δ 7,01 (H-8) e δ 6,76 (H-10) (FIGURA 33, TABELA 33).

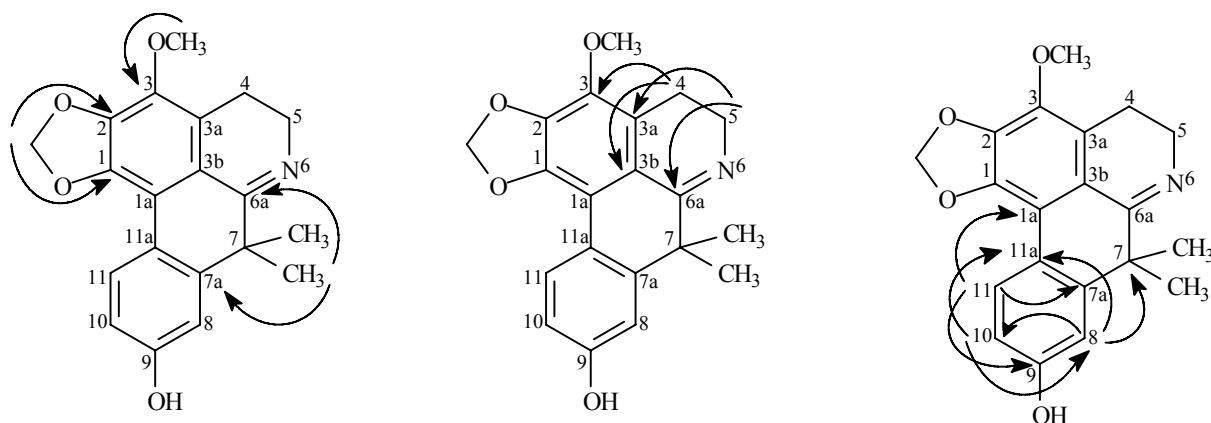


FIGURA 33. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G29**.

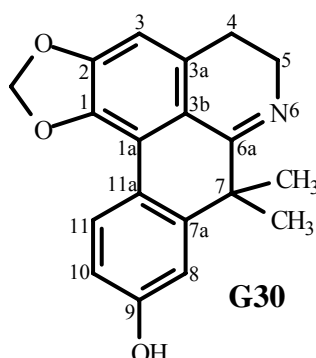
Na TABELA 33 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G29** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado *3-metoxi-guadiscidina*.

TABELA 33. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G29**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	HMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	142,88 s		
1a	112,55 s		

2	139,63 s		
3	138,34 s		
3a	124,56 s		
3b	117,42 s		
4	19,64 t	2,58 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5	46,53 t	3,53 (2H, m)	3a, 3b ^d , 4 e 6a
6a	172,21 s		
7	43,16 s		
7a	145,43 s		
8	112,08 d	7,01 (1H, d, 2,5)	1a ^d , 7, 7a ^d , 9, 10 e 11a
9	156,92 s		
10	113,55 d	6,76 (1H, dd, 8,5 e 2,5)	7a ^d , 8, 9 ^d e 11a
11	128,59 d	8,04 (1H, d, 8,5)	1a, 7 ^d , 7a e 9
11a	120,28 s		
(1-2)-OCH ₂ O	101,31 t	6,09 (2H, s)	1 e 2
3-OCH ₃	60,06 q	4,01 (3H, s)	3
9-OH			
7-CH ₃	27,59 q	1,45 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃ + gotas de CD₃OD, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G30** apresentou-se como sólido amorfo amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₉H₁₇NO₃ (calculado 307,1208) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H 1D/2D. Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E89) de **G30** observou-se similaridades quando comparado com o espectro no IV de **G19**, exceto pela absorção larga em 3422 cm⁻¹ típica de grupo hidroxila fenólica. O espectro de absorção na região do UV de **G30** (ANEXO I - E90) também apresentou algumas similaridades quando comparados com os dados no UV de **G19** e **G29**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ¹H 1D (ANEXO I - E91) e 2D, gHSQC (ANEXO I - E92) e gHMBC (ANEXO I - E93) (H 400 MHz e C 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD), diferindo de **G19** pela ausência do sinal do grupo metoxílico em δ 3,86 no espectro de ¹H e em δ 55,29 no espectro bidimensional gHSQC, típico de grupo metoxílico

substituído em C-9, sugerindo um provável grupo hidroxila substituído nesta posição (TABELA 34), conforme indicado no espectro de absorção na região do IV. Em relação a **G29** difere desta pela presença do sinal do hidrogênio aromático em δ 6,63 (H-3) e ausência do sinal do carbono em δ 60,06 (3-OCH₃) típico de grupo metoxílico.

A presença do grupo hidroxila substituído em C-9 foi evidenciada devido ao sinal do carbono em δ 157,65 (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E92), bem como nenhuma correlação com o grupo metilenodióxi (δ 100,82) no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E93), porém observou-se a correlação a J³ deste sinal (δ 157,65) com o sinal do hidrogênio aromático em δ 8,12 (H-11), bem como a J² com os sinais dos hidrogênios em δ 7,03 (H-8) e δ 6,78 (H-10) (FIGURA 34, TABELA 34).

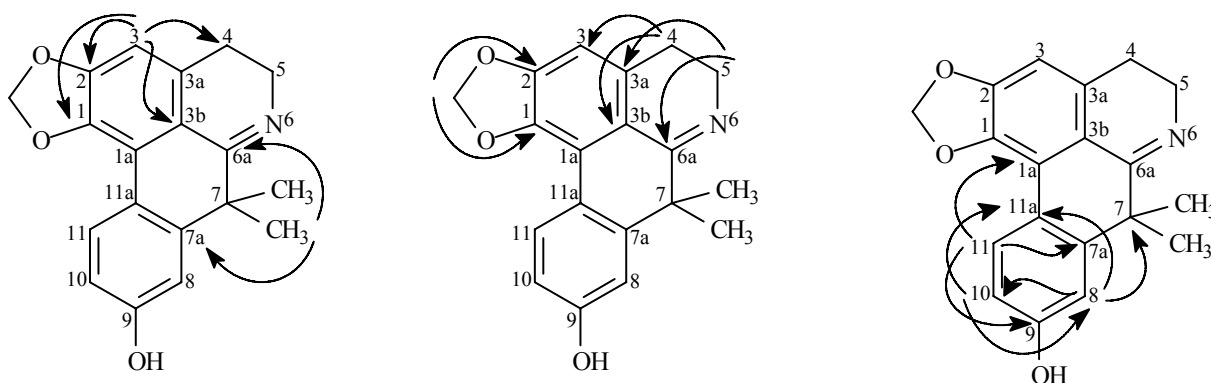


FIGURA 34. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G30**.

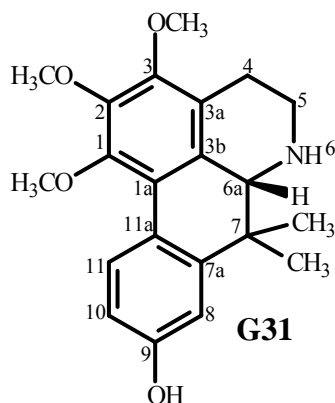
Na TABELA 34 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G30** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura (GUINAUDEAU *et al.*, 1983), elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo 7,7-gemdimetilaporfínic conhecido como *guadiscidina*. De acordo com dados da literatura os valores de carbonos apresentados neste trabalho são relatados pela primeira vez. Este composto é bastante encontrado em espécies do gênero *Guatteria* (GUINAUDEAU *et al.*, 1983; PELLETIER, 1987), podendo ser considerado um marcador quimiotaxonômico desse gênero.

TABELA 34. Dados de RMN de ¹H e ¹³C para **G30**^a

Posição	¹³ C (δ) ^{a,b}	¹ H (δ) (mult., J em Hz) ^a	¹ H (δ) (mult., J em Hz) ^c	gHMBC (¹ H- ¹³ C) ^{a,d}
1	141,72 s			
1a	117,34 s			
2	149,93 s			
3	105,55 d	6,62 (1H, s)	6,63 (1H, s)	1, 2 ^e , 3b e 4
3a	133,01 s			

3b	117,09 s			
4ax.				
4eq.	26,17 t	2,59 (2H, m)	2,63 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5
5ax.				
5eq	46,32 t	3,56 (2H, m)	3,60 (2H, m)	3a, 3b ^e 4 e 6a
6a	172,33 s			
7	43,18 s			
7a	146,20 s			
8	111,77 d	7,03 (1H, d, 2,6)	7,07 (1H, d, 2,8)	7, 7a ^e , 9 ^e , 10, e 11a
9	157,65 s			
10	113,26 d	6,78 (1H, dd, 8,6 e 2,6)	6,80 (1H, dd, 9,0 e 2,8)	8, 9 ^e e 11a
11	128,69 d	8,12 (1H, d, 8,6)	8,17 (1H, d, 9,0)	1a, 7 ^e , 7a e 9
11a	120,07 s			
(1-2)-OCH ₂ O	100,82 t	6,10 (2H, s)	6,07 (2H, s)	1 e 2
7-CH ₃	27,41 q	1,46 (6H, s)	1,48 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃+ gotas de CD₃OD, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com GUINAUDEAU *et al.* (1983). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G31** apresentou-se como um sólido amarelo claro em forma de agulhas, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₅NO₄ (calculado 355,1783) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Os espectros de absorção na região do IV (ANEXO I - E94) e UV (ANEXO I - E95) de **G31** apresentaram algumas similaridades quando comparados com os espectros no IV e UV de **G27**, bem como os espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E96 e E97) e ¹³C (ANEXO I - E98) (400 e 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD), diferindo de **G27** pela presença de um sinal δ 3,62 (1H, s) no espectro de ¹H correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,52 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E99), típico de H-6a/C-6a, indicando a ausência da ligação dupla entre C-6a e N-6, que foi ainda evidenciada pela ausência do sinal entre δ 170-172 no espectro de ¹³C (TABELA 35). Os sinais dos hidrogênios metilênicos de H-4 e H-5, bem como os grupos metílicos substituídos em C-7 apresentaram deslocamentos químicos muito

próximos daqueles observados para **G20** e **G23**, reforçando uma estrutura do tipo 6,6a-diidro-7,7-dimetilaporfino.

Assim como observado para **G20** e **G23**, a presença de H-6a em **G31** foi evidenciada devido à correlação a J³ no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E100) do sinal em δ 3,62 (H-6a) com os sinais dos carbonos em δ 122,78 (C-1a), δ 124,24 (C-3a), δ 42,79 (C-5), δ 20,85 (7-CH₃^{Pseudoax}), δ 23,36 (7-CH₃^{Pseudoeq}) e δ 147,00 (C-7a) (FIGURA 35, TABELA 35).

Baseando-se nos modelos de **G20**, **G22** e **G23**, e comparações como os dados descritos na literatura RINGDAHL *et al.* (1981), pôde-se determinar a configuração absoluta do centro quiral C-6a de **G31** como sendo **R**.

Na TABELA 35 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G31** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura (GUINAUDEAU *et al.*, 1983), elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo 7,7-*gem*-dimetilaporfinico conhecido como *tetraidromelosmidina*. Este composto possui origem sintética, sendo o seu primeiro registro como produto natural.

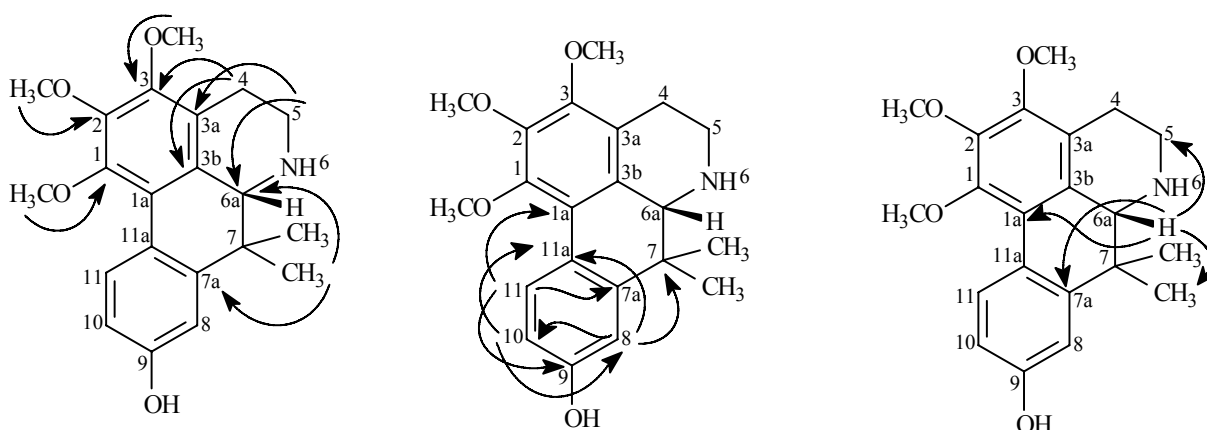


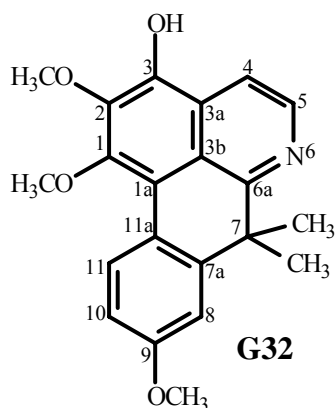
FIGURA 35. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G31**.

TABELA 35. Dados de RMN de ¹H e ¹³C para **G31**^a

Posição	¹³ C (δ) ^{a,b}	¹ H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (¹ H- ¹³ C) ^{a,c}
1	148,87 s		
1a	122,78 s		
2	145,29 s		
3	149,61 s		
3a	124,24 s		
3b	129,51 s		
4 ^{Pseudoax}		2,70 (1H, dddd, 16,9, 11,9, 5,6 e 1,7)	3, 3a, 3b e 5
4 ^{Pseudoeq}	23,74 t	2,79 (1H, ddt, 16,9, 4,2 e 1,6)	3, 3a, 3b e 5
5 ^{Pseudoax}		2,88 (1H, td, 11,9, e 4,2)	3b, 4 e 6a
5 ^{Pseudoeq}	42,79 t	3,40 (1H, ddd, 11,9, 5,6 e 1,6)	3b, 4 ^d e 6a
6a	61,52 d	3,62 (1H, t, 1,6)	1 ^d , 1a, 2 ^d , 3 ^d , 3a, 3b, 5, 7, 7a, 7-CH ₃ ^{Pseudoax} e 7-CH ₃ ^{Pseudoeq}
7	38,14 s		
7a	147,00 s		

8	110,56 d	6,90 (1H, d, 2,6)	7, 9, 10, e 11a
9	156,22 s		
10	113,21 d	6,75 (1H, dd, 8,6 e 2,6)	7a ^d , 8, 9 e 11a
11	129,64 d	8,10 (1H, d, 8,6)	1a, 7 ^d , 7a, 8 ^d e 9
11a	122,31 s		
1-OCH ₃	60,54 q	3,67 (3H, s)	1
2-OCH ₃	61,13 q	3,96 (3H, s)	2
3-OCH ₃	60,57 q	3,89 (3H, s)	3
9-OH			
7-CH ₃ Pseudoax	20,85 q	0,85 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ Pseudoeq e 7a
7-CH ₃ Pseudoeq	23,36 q	1,44 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ Pseudoax e 7a

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃ + gotas de CD₃OD, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G32** apresentou-se como um sólido amorfo marrom escuro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₁NO₄ (calculado 351,1470) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C.

Pelas análises dos espectros na região do UV (ANEXO I - E101) e IV (ANEXO I - E102) de **G32** observou-se algumas similaridades quando comparados com os espectros no IV e UV de **G21**, bem como os espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E103) e ¹³C (ANEXO I - E104) (400 e 100 MHz, CDCl₃), diferindo de **G21** pela ausência dos sinais dos grupos metilênicos H-5 e H-4 em δ 3,63 (m) e δ 2,63 (m) no espectro de ¹H, e δ 46,37 e δ 19,35 no espectro de ¹³C, respectivamente, indicando um composto com a estrutura 7,7-dimetil-4,5,6,6a-dihidroaporfino (TABELA 36). A presença dessa estrutura foi evidenciada devido dois sinais na região aromática no espectro de ¹H em δ 7,74 e δ 8,49 ambos dubletos com constante de acoplamento em torno de 5,6 Hz, típicos de sistema piridínico correlacionados aos carbonos em δ 112,48 e δ 142,03 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E105, TABELA 36).

A estrutura proposta foi baseada nas análises dos mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E105) e gHMBC (ANEXO I - E106), bem como experimentos de NOE 1D (ANEXO I - E107) (FIGURA 35, TABELA 36).

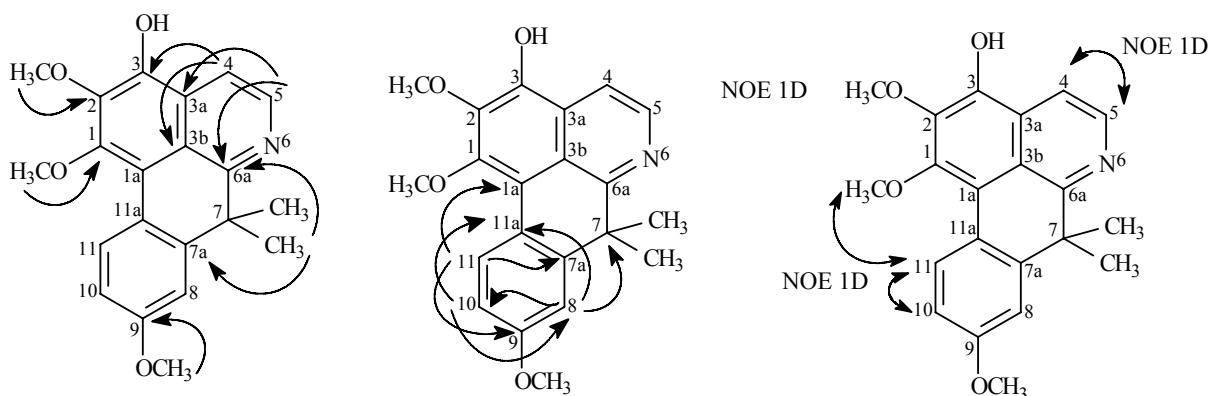


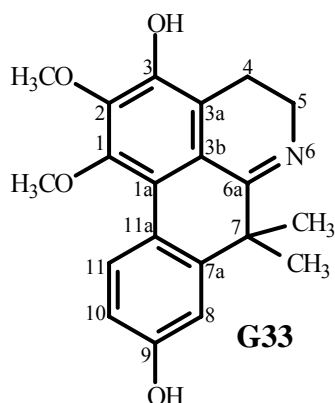
FIGURA 36. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G32**.

Na TABELA 36 é apresentado os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G32** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado 3-hidroxielosmidina.

TABELA 36. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G32**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	149,31 s			
1a	116,32 s			
2	140,51 s			
3	141,47 s			
3a	124,52 s			
3b	119,25 s			
4	112,48 d	7,74 (1H, d, 5,6)	3, 3b e 5	H-5
5	142,03 d	8,49 (1H, d, 5,6)	3a, 3b ^e , 4 e 6a	
6a	163,34 s			
7	42,34 s			
7a	146,87 s			
8	112,19 d	7,21 (1H, d, 2,4)	7, 10 e 11a	
9	158,92 s			
10	111,79 d	6,90 (1H, dd, 9,0 e 2,4)	8 e 11a	
11	128,58 d	8,81 (1H, d, 9,0)	1a, 7a e 9	1-OCH ₃ e H-10
11a	122,02 s			
1-OCH ₃	60,37 q	3,91 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,50 q	4,09 (3H, s)	2	
3-OH				
9-OCH ₃	55,23 q	3,90 (3H, s)	9	
7-CH ₃	32,21 q	1,74 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G33** apresentou-se como um sólido cristalino amarelado, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{20}H_{21}NO_4$ (calculado 339,1470) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C .

Pelas análises dos espectros na região do UV (ANEXO I - E108) e IV (ANEXO I - E109) de **G33** observou-se algumas similaridades quando comparados com os espectros no IV e UV de **G21**, bem como os espectros de RMN de 1H (ANEXO I - E110) e ^{13}C (ANEXO I - E111) (400 e 100 MHz, $CDCl_3$ + gotas de CD_3OD), diferindo de **G21** pela ausência do sinal do grupo metoxílico em δ 3,86 no espectro de 1H e em δ 55,23 no espectro de ^{13}C , substituído em C-9, sugerindo um provável grupo hidroxila substituído nesta posição (TABELA 37).

A presença deste grupo hidroxila substituído em C-9 foi evidenciada devido ao sinal do carbono em δ 156,38 (C-3) típico de carbono aromático oxigenado, o qual não apresentou nenhuma correlação com os hidrogênios aromáticos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E112), bem como nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E113), porém observou-se a correlação a J^3 deste sinal (δ 156,38) com o sinal do hidrogênio aromático em δ 8,27 (H-11), bem como a J^2 com os sinais dos hidrogênios em δ 6,99 (H-8) e δ 6,75 (H-10). A estrutura foi ainda sustentada com base nos experimentos de NOE 1D (ANEXO I - E114), confirmando as posições dos grupos hidroxilas em C-3 e C-9, bem como os grupos metoxílicos em C-1 e C-2 (FIGURA 37, TABELA 37).

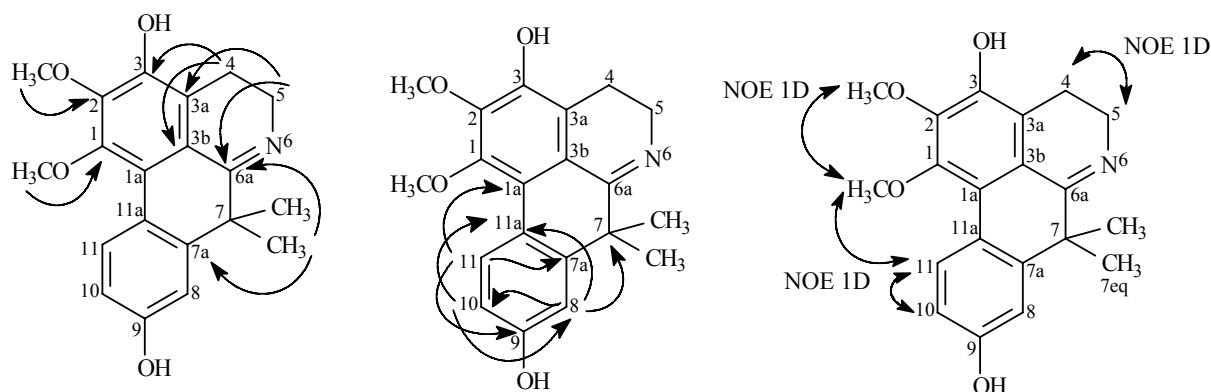


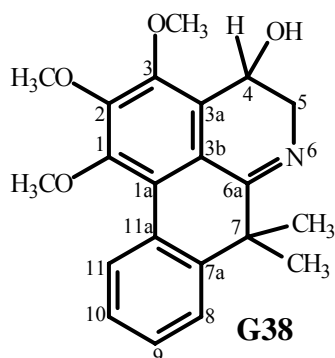
FIGURA 37. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G33**.

Na TABELA 37 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G33** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-gemdimetilaporfínico denominado 6,6a-desidro-3-hidroxi-tetraidromelosmidina.

TABELA 37. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G33**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	148,48 s			
1a	119,81 s			
2	143,60 s			
3	144,94 s			
3a	120,29 s			
3b	119,84 s			
4	19,52 t	2,60 (2H, m)	3, 3a, 3b e 5	5
5	46,33 t	3,55 (2H, m)	3a, 3b ^e , 4 e 6a	
6a	173,14 s			
7	42,91 s			
7a	145,00 s			
8	111,67 d	6,99 (1H, d, 2,6)	7, 7a ^e , 9 ^e , 10 e 11a	
9	156,38 s			
10	113,53 d	6,75 (1H, dd, 8,6 e 2,6)	7a ^e , 8, 9 e 11a	
11	129,10 d	8,27 (1H, d, 8,6)	1a, 7 ^e , 7a, 8 ^e e 9	1-OCH ₃ e 10
11a	121,93 s			
1-OCH ₃	60,44 q	3,77 (3H, s)	1	2-OCH ₃ e H-11
2-OCH ₃	61,17 q	4,00 (3H, s)	2	1-OCH ₃
3-OH				
9-OH				
7-CH ₃	27,15 q	1,43 (6H, s)	6a, 7, 7a e 7-CH ₃	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz, para ^{13}C em CDCl_3 + gotas de CD_3OD , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G38** apresentou-se como um sólido cristalino amarelo claro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₃NO₄ (calculado 353,1627) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C.

Pelas análises dos espectros na região do UV (ANEXO I - E115) e IV (ANEXO I - E116) de **G38** observou-se algumas similaridades quando comparados com os espectros no IV e UV de **G16**, **G17**, **G21** e **G27**. Pelas análises dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E117) e ¹³C (ANEXO I - E118) (400 e 100 MHz, CDCl₃) de **G38**, observou-se também algumas similaridades quando comparados com os espectros de **G22**, diferindo deste pela ausência do sinal do hidrogênio em δ 3,56 (H-6a) no espectro de ¹H, e do sinal do carbono em δ 61,45 no espectro de ¹³C, indicando uma ligação dupla entre C-6a e N-6, que foi confirmada pela presença do sinal do carbono em δ 170,45 típico de carbono de grupo imina (C=N).

A estrutura de **G38** proposta foi baseada nas análises dos mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E119) e gHMBC (ANEXO I - E120), bem como experimentos de NOE 1D (ANEXO I - E121) (FIGURA 38, TABELA 38).

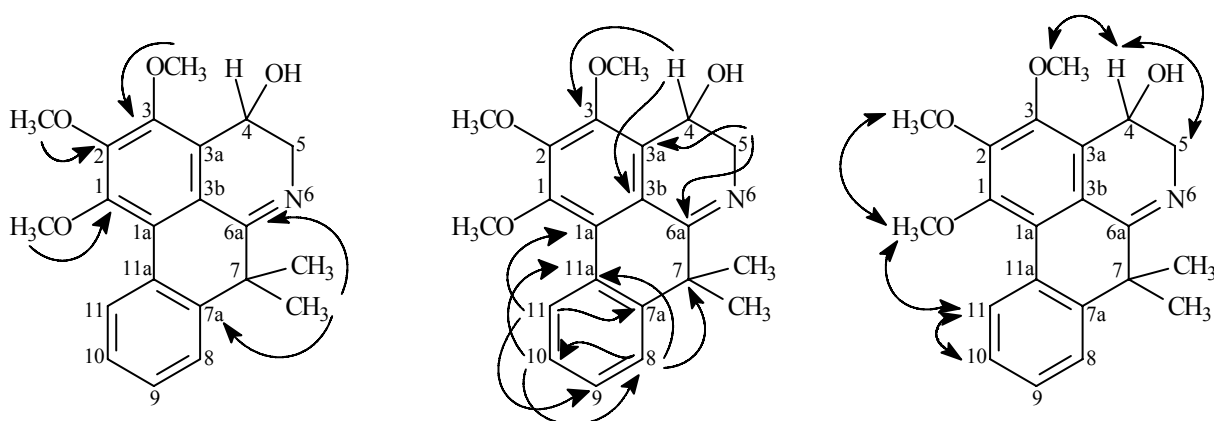


FIGURA 38. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G38**.

Na TABELA 38 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G38** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE

1D elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7,7-*gem*dimetilaporfínico denominado 6,6a-desidroguatteriopiscina.

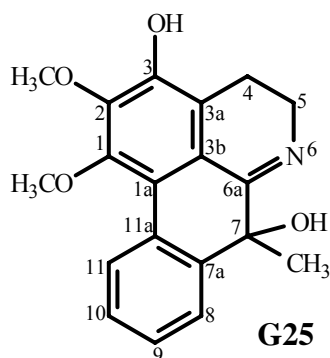
TABELA 38. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G38**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^d
1	152,09 s			
1a	122,95 s			
2	149,46 s			
3	149,96 s			
3a	126,23 s			
3b	118,57 s			
4 ^{Pseudoeq}	59,48 t	4,98 (1H, dd, 4,2 e 2,4)	1a ^e , 3, 3a e 3b	3-OCH ₃ , H-5 ^{Pseudoax} e H-5 ^{Pseudoeq}
5 ^{Pseudoax}		3,48 (1H, dd, 16,6 e 4,2)	3a, 3b ^e , 6a e 7 ^e	
5 ^{Pseudoeq}	54,83 t	4,40 (1H, dd, 16,6 e 2,4)	3a, 4 e 6a	
6a	170,45 s			
7	42,77 s			
7a	143,72 s			
8	124,60 d	7,54 (1H, m)	7, 7a ^e , 10 e 11a	
9	128,20 d	7,30 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
10	126,73 d	7,30 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
11	127,83 d	8,46 (1H, m)	1a, 9 e 11	1-OCH ₃ e H-10
11a	129,49 s			
1-OCH ₃	60,98 q	3,84 (3H, s)		2-OCH ₃ e H-11
2-OCH ₃	61,15 q	4,04 (3H, s)		
3-OCH ₃	61,83 q	4,03 (3H, s)		
7-CH ₃ ^{Pseudoax}	22,67 q	1,71 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoeq} , 7a e 8 ^e	
7-CH ₃ ^{Pseudoeq}	32,09 q	1,38 (3H, s)	6a, 7, 7-CH ₃ ^{Pseudoax} e 7a	

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO 7-HIDROXI-7-METILAPORFINOS

5.1.2.1. DETERMINAÇÃO DE G25 E G39



O composto **G25** apresentou-se como um sólido amorfo verde-escuro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{19}H_{19}NO_4$ (calculado 325,1314) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C .

Pela análise do espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) observou-se características de um esqueleto do tipo 7-hidroxi-7-metilaporfínico pelos máximos de absorções (λ_{max}) em 204, 222, 236, 256, 264, 292 e 343 nm (ANEXO I - E122) (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Pela análise do espectro de absorção na região do IV (KBr) observou-se a presença de uma hidroxila fenólica devido à absorção larga em 3411 cm^{-1} , bem como absorções típicas de sistema aromático entre $1575\text{-}1351\text{ cm}^{-1}$ (ANEXO I - E123).

Pela análise do espectro de RMN de 1H (ANEXO I - E124, E125 e E126) e ^{13}C (ANEXO I - E127) (400 e 100 MHz, $CDCl_3$) de **G25** observou-se características de um alcalóide do tipo 7,7-dimetilaporfínico devido ao sinal de um singlete em δ 1,51 com integração para três hidrogênios no espectro de 1H correlacionado ao sinal do carbono em δ 33,37 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E128), típico de grupo metílico substituído em C-7 (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Observou-se também a presença de quatro sinais, sendo dois em δ 4,11 (1H, ddd, $J = 15,0, 6,1$ e $1,0$ Hz) e δ 3,23 (1H, ddd, $J = 16,7, 15,1$ e $5,3$ Hz) típicos dos hidrogênios $H-5_{Pseudoeq}$ e $H-5_{Pseudoax}$, respectivamente correlacionados ao sinal do carbono em δ 45,40 no mapa de contorno gHSQC, e dois em δ 2,44 (1H, td, $J = 16,7$ e $6,1$ Hz) e δ 3,01 (1H, ddd, $J = 16,6, 5,3$ e $1,0$ Hz) característicos de $H-4_{Pseudoax}$ e $H-4_{Pseudoeq}$, respectivamente correlacionados ao sinal do carbono em δ 19,51, correspondendo a um sistema CH_2-CH_2 (TABELA 39). Verificou-se ainda dois sinais em δ 4,06 e δ 3,82 típicos de grupos metoxílicos substituídos em C-2 e C-1, respectivamente (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se a presença de três sinais com integração para quatro hidrogênios em δ 8,38 (1H, m), δ 7,31 (2H, m) e δ 7,83 (1H, m), característicos dos hidrogênios aromáticos do anel D não substituído do sistema 7-hidroxi-7-metilaporfínico, atribuídos a H-11, H-10/H-9 e H-8, respectivamente (TABELA 39). Com base nessas informações verificou-se também que provavelmente o anel A apresenta-se totalmente substituído, uma vez que nenhum hidrogênio aromático a mais foi observado, podendo ser esse substituinte um grupo hidroxila, conforme observado no espectro no IV, localizado provavelmente em C-3 de acordo com GUINAUDEAU *et al.* (1983). Ainda no espectro de 1H observou-se ausência do sinal de H-6a entre δ 3,50-3,71, indicando a presença de uma ligação dupla entre C-6a e N-6, que foi confirmada pelo sinal do carbono em δ 170,85.

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C (ANEXO I - E127), gHSQC (ANEXO I - E128) e gHMBC (ANEXO I - E129) observou-se a presença de 19 carbonos sendo 12 aromáticos entre δ 149,26 e δ 118,34, dois quaternários, sendo um em δ 170,85 (C-6a) típico de grupo imina (C=N) e outro em δ 72,60 (C-7) típico de carbono carbinólico, dois metoxílicos em δ 61,27 (2- ou 3-OCH₃) e δ 60,64 (1-OCH₃), dois metilênicos em δ 45,40 (C-5) e 19,51 (C-4) e um grupo metílico em δ 33,37 (C-7), de acordo com a estrutura de **G25** (TABELA 39).

O esqueleto 7-hidroxi-7-metilaporfínico foi confirmado devido ao sinal do carbono carbinólico em δ 72,60 que mostrou correlação a J³ no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E129) com o sinal do hidrogênio aromático em δ 7,83 (H-8) e a J² com o sinal do grupo metílico em δ 1,51 (7-CH₃) (FIGURA 39, TABELA 39)

Pela análise conjunta dos espectros observou-se também que o sinal do carbono em δ 145,57 típico de carbono aromático oxigenado não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E128), indicando provavelmente a presença de um grupo hidroxila na molécula, localizado no anel A do esqueleto 7-hidroxi-, 7-metilaporfínico, provavelmente na posição C-2 ou C-3, de acordo com os dados da literatura (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Pelo mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E129) pôde-se verificar que o grupo hidroxila estava localizado em C-3 pela correlação dos sinais em δ 3,01 (H-4_{pseudoeq}) e δ 2,44 (H-4_{pseudoax}) a J³ com o sinal do carbono em δ 145,57 (C-3), e confirmada pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E130), em que a irradiação do sinal em δ 3,01 (H-4_{pseudoeq}) apresentou correlação com os sinais em δ 2,44 (H-4_{pseudoax}), δ 3,23 (H-5_{pseudoax}) e δ 4,11 (H-5_{pseudoeq}), e a irradiação do sinal δ 2,44 (H-4_{ax}) mostrou correlação com os sinais em δ 3,01 (H-4_{pseudoeq}), δ 3,23 (H-5_{pseudoax}) e δ 4,11 (H-5_{pseudoeq}) conforme a TABELA 38 (FIGURA 39). Através dos experimentos de NOE 1D (ANEXO I - E130) pôde-se também determinar as corretas posições dos grupos metoxílicos e hidroxila conforme mostrado na TABELA 39 e FIGURA 39.

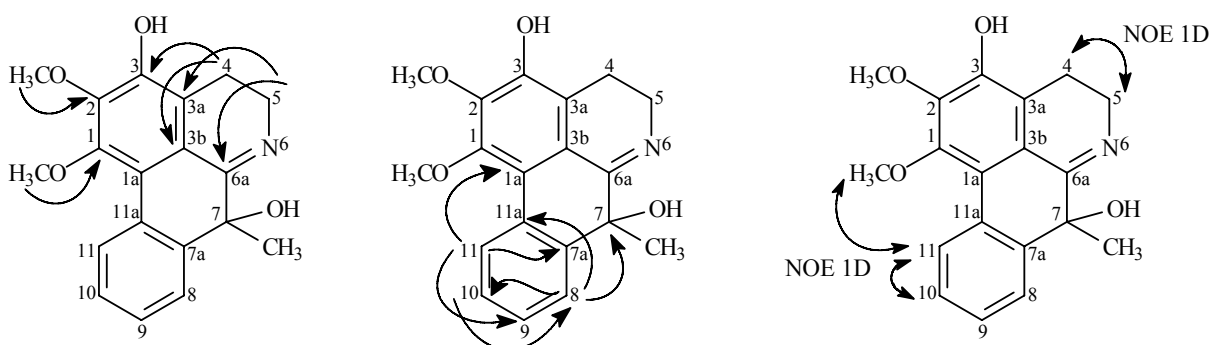


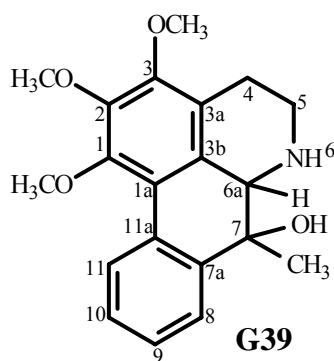
FIGURA 39. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G25**.

Na TABELA 39 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G25** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo 7-hidroxi-7metilaporfínico denominado *4-desidroxi-7-demetil-7-hidroxi-guatteriopiscina*.

TABELA 39. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G25**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	149,26 s			
1a	119,31 s			
2	143,64 s			
3	145,57 s			
3a	119,26 s			
3b	118,34 s			
4 ^{Pseudoax}		2,44 (1H, td, 16,7 e 6,1)	1 ^e , 2 ^e , 3, 3a, 3b, 5 e 6a ^e	H-4 ^{Pseudoeq} , H-5 ^{Pseudoax} e H-5 ^{Pseudoeq}
4 ^{Pseudoeq}	19,51 t	3,01 (1H, ddd, 16,6, 5,3 e 1,0)	3, 3a, 3b e 5	H-4 ^{Pseudoax} , H-5 ^{Pseudoax} e H-5 ^{Pseudoeq}
5 ^{Pseudoax}		3,23 (1H, ddd, 16,7, 15,0 e 5,3)	3a, 3b ^e , 4 e 6a	
5 ^{Pseudoeq}	45,40 t	4,11 (1H, ddd, 15,0, 6,1 e 1,0)	3a, 4 e 6a	
6a	170,85 s			
7	72,60 s			
7a	141,82 s			
8	124,54 d	7,83 (1H, m)	7, 7a ^e , 9, 10 e 11a	
9	127,92 d	7,31 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
10	127,54 d	7,31 (1H, m)	7a, 8, 11 e 11a	
11	126,91 d	8,38 (1H, m)	1a, 7 ^e , 7a e 9	1-OCH ₃ e H-10
11a	128,47 s			
1-OCH ₃	60,64q	3,82 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	61,27 q	4,06 (3H, s)	2	
3-OH				
7-CH ₃	33,37 q	1,51 (3H, s)	6a, 7 e 7a	
7-OH				

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , DEPT 135 e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G39** apresentou-se como um sólido amorfo marrom escuro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{20}H_{23}NO_4$ (calculado 341,1627) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C .

Pela análise do espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G39** também observou-se características de um esqueleto do tipo 7-hidroxi-7-metilaporfínico pelos máximos de absorções (λ_{max}) em 211, 240, 262 e 277 nm (ANEXO I - E131) (GUINAUDEAU *ET al.*, 1983). Pela análise do espectro de absorção na região do IV (filme, $CHCl_3$) observou-se a presença de uma hidroxila fenólica devido à absorção larga em 3295 cm^{-1} , bem como absorções típicas de sistema aromático entre $1581\text{--}1338\text{ cm}^{-1}$ (ANEXO I - E132).

Assim como observado para **G25**, pela análise do espectro de RMN de 1H (ANEXO I - E133, E134 e E135) e ^{13}C (ANEXO I - E136) (400 e 100 MHz, $CDCl_3$) de **G39** observou-se características de um alcalóide do tipo 7-hidroxi-7-metilaporfínico devido ao sinal de um singlete em δ 1,79 com integração para três hidrogênios no espectro de 1H correlacionado ao sinal do carbono em δ 22,10 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E137), típico de grupo metílico substituído em C-7 (GUINAUDEAU *et al.*, 1983). Quando comparado seus dados espectrais (RMN de 1H e ^{13}C) com os dados espectrais de **G25**, observou-se que **G39** diferencia-se de **G25** devido à presença de um grupo metoxílico a mais em δ 3,92 no espectro de 1H e δ 60,41 no espectro de ^{13}C localizado provavelmente em C-3, bem como o sinal em 3,77 (1H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,31 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E137) característico de H-6a/C-6a indicando um esqueleto do tipo 6,6a-diidro-7-hidroxi-7-metilaporfino (TABELA 40).

A presença de H-6a em **G39** foi evidenciada devido à correlação a J^3 no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E138) do sinal em δ 3,77 (H-6a) com os sinais dos carbonos em δ 121,56 (C-1a), δ 125,46 (C-3a), δ 42,41 (C-5) e δ 138,98 (C-7a) (FIGURA 40, TABELA 40), bem como o grupo metílico substituído em C-7 devido à correlação do sinal dos hidrogênios metílicos em δ 1,79 a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 61,31 (C-6a) e δ 138,98 (C-7a) e a J^2 com o sinal do carbono em δ 70,72 (C-7), evidenciando ainda mais o esqueleto 7-hidroxi-7-metilaporfínico. O grupo metoxílico substituído em C-3 foi confirmado pela correlação do sinal em δ 2,59 (H-4) a J^3 com o sinal do carbono em δ 150,96 (C-3) portador do grupo metoxílico em δ 3,92 (3-OCH₃) no espectro de RMN de 1H (FIGURA 40, TABELA 40).

Na TABELA 40 são apresentados os corretos valores de 1H e ^{13}C de **G39** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC 1D, elucidando-o como

sendo um alcalóide inédito do tipo 7-hidroxi-7metilaporfínico denominado *6,6a-diidro-7-demetil-7-hidroxi-9-demetoxiguatterioliscina*.

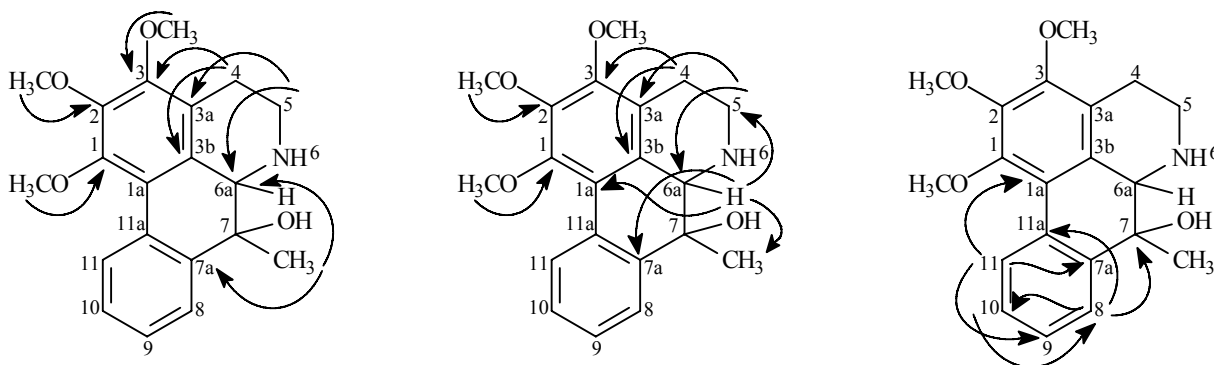


FIGURA 40. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G39**.

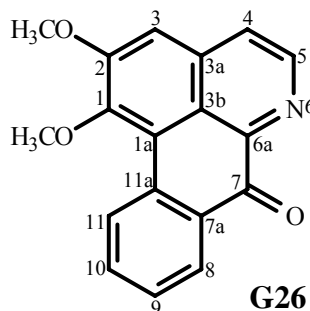
TABELA 40. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G39**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	149,83 s		
1a	121,56 s		
2	145,68 s		
3	150,96 s		
3a	125,46 s		
3b	128,08 s		
4 ^{Pseudoax}		2,72 (1H, dddd, 17,1, 12,0, 6,1 e 1,7)	3a e 3b
4 ^{Pseudoeq}	23,55 t	2,82 (1H, ddt, 17,0, 4,5 e 1,4)	3, 3a, 3b e 5
5 ^{Pseudoax}		2,98 (1H, td, 12,3 e 4,5)	3a, 4 ^d e 6a
5 ^{Pseudoeq}	42,41 t	3,49 (1H, ddd, 12,3, 6,2 e 1,4)	3a, 4 e 6a
6a	61,31 d	3,77 (1H, t, 1,5)	1a, 3a, 3b, 5 ^d e 7a
7	70,72 s		
7a	138,98 s		
8	124,21 d	7,60 (1H, dd, 7,8 e 1,3)	7, 10 e 11a
9	127,41 d	7,30 (1H, td, 7,4 e 1,4)	7a, 11 e 11a ^d
10	128,52 d	7,38 (1H, ddd, 7,8, 7,4 e 1,4)	8 e 11a
11	128,42 d	8,38 (1H, ddd, 7,8, 1,4 e 0,4)	1a, 7a e 9
11a	130,63 s		
1-OCH ₃	60,76 q	3,73 (3H, s)	1
2-OCH ₃	60,94 q	3,96 (3H, s)	2
3-OCH ₃	60,41 q	3,92 (3H, s)	3
7-CH ₃	22,10 q	1,79 (3H, s)	6a, 7, 7a e 8
7-OH			

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO OXOAPORFINOS

5.1.3.1. DETERMINAÇÃO DE G26, G28, G34, G40, G41, G45 E G48



O composto **G26** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas, p.f. = 186-188 °C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $C_{18}H_{13}NO_3$ (calculado 291,0895) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C .

A presença de um esqueleto oxoaporfínico na molécula foi deduzida pela análise do espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) pelos máximos de absorções (λ_{max}) em 206, 236, 269, 306, 380 e 402 nm (ANEXO I - E139), juntamente com uma banda de absorção na região do IV (filme, $CHCl_3$) em 1653 cm^{-1} (ANEXO I - E140), típica de grupo carbonila conjugado (WIJERATNE *et al.*, 1996).

Pela análise do espectro de RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) (ANEXO I - E41 e E142) observou-se características de um alcalóide do tipo oxoaporfínico dissustituído. Verificou-se a presença de sete sinais aromáticos com integração para sete hidrogênios aromáticos, sendo quatro em δ 9,18 (1H, ddd, $J = 8,4, 1,1$ e $0,5$ Hz), δ 8,58 (1H, ddd, $J = 7,9, 1,6$ e $0,5$ Hz), δ 7,77 (1H, ddd, $J = 8,4, 7,2$ e $1,6$ Hz) e δ 7,58 (1H, ddd, $J = 7,9, 7,2$ e $1,1$ Hz), atribuídos a H-11, H-8, H-10 e H-9, respectivamente, típicos dos hidrogênios aromáticos do anel D não substituído, e um em δ 7,23 (1H, s) típico de H-3 do anel A do sistema oxoaporfínico dissustituído. Os dois sinais restantes observados em δ 8,91 e δ 7,81 ambos dubletos ($J = 5,2$ Hz) mostraram características de um sistema piridínico compatível com o anel B do sistema oxoaporfínico, referentes aos hidrogênios H-5 e H-4, respectivamente (CHANG *et al.*, 2000) (TABELA 41). Observou-se ainda dois sinais em δ 4,02 e δ 4,10 ambos os singletos com integração para três hidrogênios típicos de grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2, respectivamente do anel A do sistema oxoaporfínico (TABELA 41).

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) (E143, pag.), gHSQC (ANEXO I - E144) e gHMBC (ANEXO I - E145), observou-se a presença de 18 carbonos sendo 15 aromáticos entre δ 156,90 e δ 106,48, um carbonílico em δ 182,68 (C-7) e dois metoxílicos em δ 60,67 (1- OCH_3) e δ 56,23 (2- OCH_3), consistente com a estrutura de **G26** (TABELA 41). A presença do sinal do carbono carbonílico em δ 182,68 evidencia a presença do esqueleto oxoaporfínico conforme sugerido nos espectros no UV, IV e RMN de ^1H .

Pelo mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E145) pôde-se confirmar a presença do grupo carbonílico na molécula devido à correlação do sinal em δ 8,58 (H-8) a J^3 com o sinal do carbono em δ 182,68 (C-7), bem como a correta localização do sinal de H-3 (δ 7,23) devido sua correlação a J^3 com o sinal do carbono em δ 123,62 (C-4). Ainda pelo mapa de contorno gHMBC pode-se determinar os corretos valores de C-1 e C-2 devido à correlação a J^3 do sinal em δ 7,23 (H-3) com o sinal do carbono em δ 152,12 (C-1) onde está localizado o grupo metoxílico em δ 4,02 (1- OCH_3) e a J^2 com o sinal do carbono em δ 156,90 substituído pelo grupo metoxílico em δ 4,10 (2- OCH_3), respectivamente (FIGURA 41, TABELA 41).

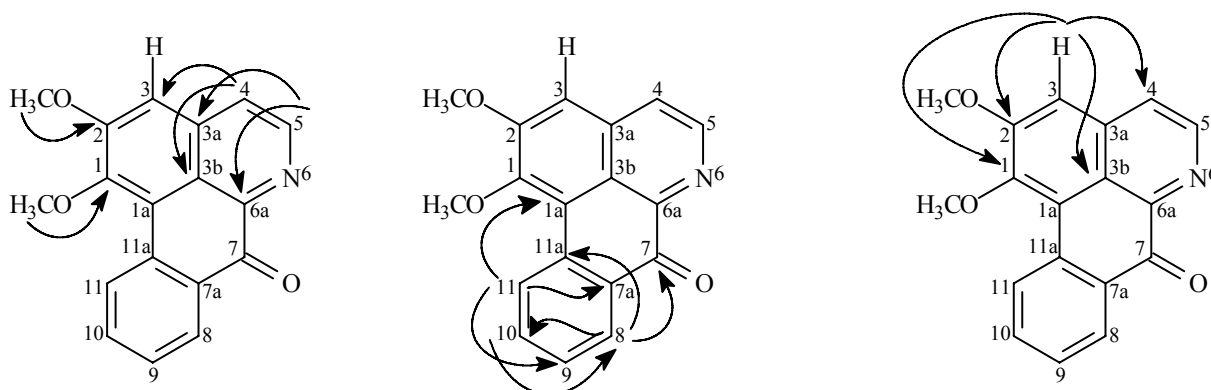


FIGURA 41. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G26**.

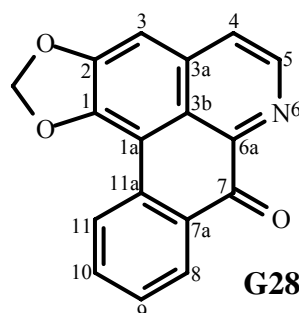
Pela análise de RMN 2D (gHSQC e gHMBC), e comparações com os dados da literatura, pôde-se atribuir os corretos assinalamentos para todos os hidrogênios e carbonos de **G26** (TABELA 41), elucidando-o como sendo o alcalóide oxoaporfínico conhecido como *lysicamina*, encontrando com frequência em espécies da família Annonaceae, podendo ser considerado um marcador quimiotaxonômico. De acordo com os nossos dados observou-se que os sinais dos carbonos C-3a e C-6a, bem como C-8 e C-9 publicados por ZHANG *et al.* (2002) apresentam-se trocados, sendo corrigidos nesse trabalho.

TABELA 41. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G26**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^d	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,e}
1	152,12 s	152,2			
1a	119,88 s	120,0			
2	156,90 s	157,0			
3	106,48 d	106,6	7,23 (1H, s)	7,24 (1H, s)	1, 1a ^f , 2 ^f , 3b e 4
3a	135,56 s	145,4			
3b	122,21 s	122,3			
4	123,62 d	123,8	7,81 (1H, d, 5,2)	7,82 (1H, d, 5,2)	3, 3b e 5
5	145,01 d	145,2	8,91 (1H, d, 5,2)	8,93 (1H, d, 5,2)	3a, 3b ^f , 4 e 6a
6a	145,36 s	135,7			
7	182,68 s	182,9			
7a	132,11 s	132,2			
8	128,91 d	129,0	8,58 (1H, ddd, 7,9, 1,6 e 0,5)	8,59 (1H, dd, 8,0, e 1,4)	7, 10 e 11a
9	128,82 d	129,1	7,58 (1H, ddd, 7,9, 7,2 e 1,1)	7,58 (1H, td, 8,0 e 1,1)	7a, 10 ^f , 11 e 11a ^f
10	134,35 d	134,6	7,77 (1H, ddd, 8,4, 7,2 e 1,6)	7,78 (1H, dt, 8,0, e 1,4)	8 e 11a
11	128,46 d	128,6	9,18 (1H, ddd, 8,4, 1,1 e 0,5)	9,19 (1H, dd, 8,0 e 1,1)	1a, 7 ^f , 7a e 9
11a	134,35 s	134,5			
1-OCH ₃	60,67 q	60,8	4,02 (3H, s)	4,03 (3H, s)	1
2-OCH ₃	56,23 q	56,4	4,10 (3H, s)	4,11 (3H, s)	2

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno.

^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com ZHANG *et al.* (2002). Dados da literatura de acordo com CHANG *et al.* (2000) (CDCl_3 , 400 MHz). ^e Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^f Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G28** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas, p.f. = 279-280 °C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{NO}_3$ (calculado 275,0582) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E146) e IV (ANEXO I - E147) de **G28** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros de absorção no IV e UV de **G26**. O mesmo foi observado para o espectro de RMN de ^1H (E148, pag.) juntamente com os espectros bidimensionais gHSQC (ANEXO I - E149) e gHMBC (ANEXO I - 150) (400 e 100 MHz, CDCl_3), diferenciando de **G26** pela ausência dos sinais dos grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2 em δ 4,02 e δ 4,10 no espectro de ^1H e δ 60,67 e δ 56,23 no mapa de contorno gHSQC, e a presença de um sinal em δ 6,37 (2H, s, OCH_2O) correlacionado ao

sinal do carbono em δ 102,44 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E148) típico de grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2 (ORTIZ *et al.*, 2007).

O grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2 foi confirmado devido à correlação no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E149) do seu respectivo sinal em δ 6,37 a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 147,92 e δ 151,65. As corretas atribuições de C-1 e C-2 foram definidas também através do mesmo experimento, devido à correlação do sinal em 7,16 (H-3) a J^3 com o sinal do carbono em δ 147,92 e a J^2 com o sinal do carbono em δ 151,65, definindo assim C-1 e C-2, respectivamente (FIGURA 42, TABELA 42).

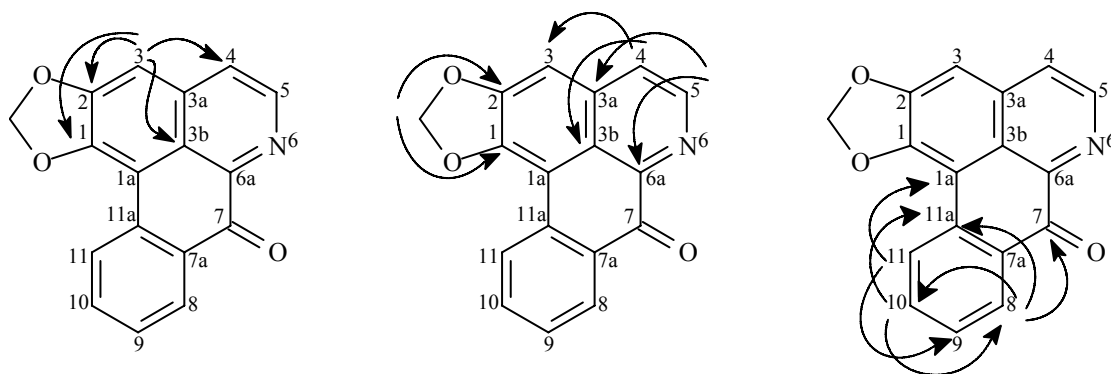


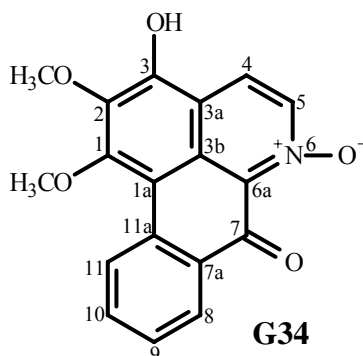
FIGURA 42. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G28**.

Na TABELA 42 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G28** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura, elucidando-o como sendo o alcalóide oxoaporfínico conhecido como *liriodenina* encontrando também com frequência em espécies da família Annonaceae, e é considerado um marcador quimiotaxonômico da família.

TABELA 42. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G28**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^d	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,e}
1	147,92 s	147,9 s			
1a	107,98 s	130,2 s			
2	151,65 s	151,7 s			
3	103,20 d	103,2 d	7,16 (1H, s)	7,16 (1H, s)	1, 1a ^f , 2 ^f , 3b e 4
3a	135,73 s	135,7 s			
3b	123,16 s	123,2 s			
4	124,33 d	124,2 d	7,75 (1H, d, 5,2)	7,74 (1H, d, 5,19)	3, 3a ^f , 3b e 5
5	144,74 d	144,8 d	8,87 (1H, d, 5,2)	8,87 (1H, d, 5,19)	3a, 3b ^f , 4 e 6a
6a	145,31 s	145,2 s			
7	182,51 s	182,3 s			
7a	131,25 s	131,2 s			
8	128,81 d	128,8 d	8,57 (1H, ddd, 7,9, 1,4 e 0,5)	8,57 (1H, dd, 7,93 e 1,22)	7, 10 e 11a
9	128,56 d	128,5 d	7,56 (1H, ddd, 7,9, 7,4 e 1,0)	7,57 (1H, dt, 7,93 e 1,22)	7a e 11
10	133,80 d	133,9 d	7,73 (1H, ddd, 8,1, 7,4 e 1,4)	7,72 (1H, dt, 7,94 e 1,22)	8 e 11a
11	127,32 d	127,3 d	8,61 (1H, ddd, 8,1, 1,0 e 0,5)	8,60 (1H, d, 7,94)	1a, 7a e 9
11a	132,87 s	132,8 s			
(1-2)-OCH ₂ O	102,44 t	102,4 t	6,37 (2H, s)	6,36 (2H, s)	1 e 2

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelo mapa de contorno gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com ORTIZ *et al.* (2007) (CDCl₃, 100 MHz). ^d Dados da literatura de acordo com WIJERATNE *et al.*, (1996) (CDCl₃, 400 MHz). ^e Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^f Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G34** apresentou-se como um sólido cristalino azul, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₈H₁₃NO₅ (calculado 323,0794) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Pela análise do espectro de absorção na região UV (ANEXO I - E151) de **G34** observou-se algumas similaridades quando comparado com os espectros no UV de **G26** e **G28**, indicando um esqueleto oxoaporfínico na molécula. Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E152) de **G34** observou-se uma banda larga em 3325 cm⁻¹ típica de hidroxila fenólica, bem como absorções características de estiramento N-O/C-O entre 1614-1494 cm⁻¹.

Pela análise do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) (ANEXO I - E153 e 154) observou-se características de um alcalóide do tipo oxoaporfínico trissubstituído. Verificou-se a presença de seis sinais aromáticos com integração para seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em δ 7,33 (1H, ddd, J = 8,0; 7,0 e 1,0 Hz), δ 7,68 (1H, ddd, J = 8,6, 7,0 e 1,6 Hz), δ 7,41 (1H, ddd, J = 8,0, 1,6 e 0,5 Hz) e δ 9,08 (1H, ddd, J = 8,6, 1,0 e 0,5 Hz), típicos dos hidrogênios aromáticos do anel D não substituído do sistema oxoaporfínico, atribuídos a H-9, H-10, H-8 e H-11, respectivamente. Os dois sinais restantes observados em δ 8,60 e δ 8,73 ambos dubletos com constante de acoplamento do tipo piridínico (J = 5,1 Hz) eram compatíveis com os hidrogênios do anel B, atribuídos a H-5 e H-4, respectivamente. Observou-se ainda dois sinais em δ 4,08 e δ 3,97 ambos os singletos com integração para três hidrogênios típicos de grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2 (TABELA 43).

Pela análise dos espectros de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) (ANEXO I - E155), gHSQC (ANEXO I - E156) e gHMBC (ANEXO I - E157) observou-se a presença de 18 carbonos sendo 15 aromáticos entre δ 166,07 e δ 102,73, um carbonílico em δ 184,58 (C-7) e

dois metoxílicos em δ 61,29 (1-OCH₃) e δ 60,67 (2-OCH₃), consistente com a estrutura de **G34** (TABELA 43). A presença do sinal do carbono carbonílico em δ 184,58 evidenciou a presença do esqueleto oxoaporfínico. Observou-se ainda um sinal em δ 166,07 típico de carbono aromático oxigenado o qual não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos, indicando uma provável presença de um grupo hidroxila na molécula, estando de acordo com as informações contidas no espectro no IV.

Pelo mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E157) pôde-se confirmar a presença do grupo carbonílico na molécula devido à correlação do sinal em δ 8,41 (H-8) a J³ com o sinal do carbono em δ 184,58, bem como a presença do grupo hidroxila em C-3, devido à correlação do sinal em δ 8,60 (H-4) a J³ com o sinal em δ 166,07 (C-9). O grupo hidroxila em C-3 foi ainda reforçado pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E158), em que a irradiação do sinal em δ 8,60 (H-4) evidenciou correlação apenas com o sinal em δ 8,73 (H-5). Pela análise de NOE 1D (ANEXO I - E158) pôde-se ainda atribuir a correta posição do grupo metoxílico em C-1, devido à correlação do sinal em δ 9,08 (H-11) com o sinal do grupo metoxílico em δ 4,08 (1-OCH₃) correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,29 no mapa de contorno gHSQC (FIGURA 43, TABELA 43). Conseqüentemente o grupo metoxílico em δ 3,97 (1-OCH₃) correlacionado ao sinal do carbono em δ 60,67 foi atribuído a substituição em C-2 (FIGURA 43, TABELA 43).

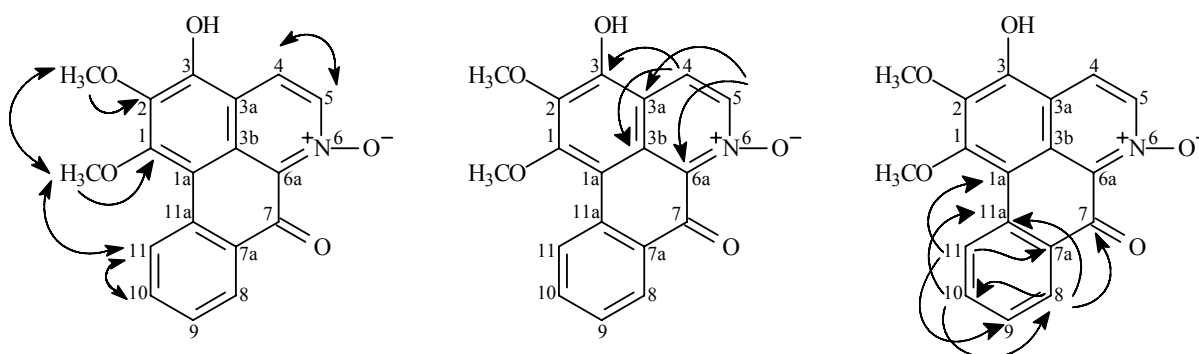


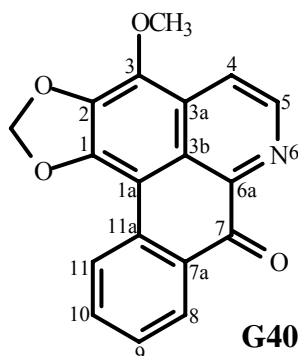
FIGURA 43. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e medidas de NOE 1D de **G34**.

Na TABELA 43 são apresentados os corretos valores de ¹H e ¹³C de **G34** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo oxoaporfínico denominado *N-óxido-isomoschatolina*.

TABELA 43. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G34**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE ^{a,d}
1	162,74 s			
1a	102,73 s			
2	144,00 s			
3	166,07 s			
3a	136,15 s			
3b	124,71 s			
4	124,01 d	8,60 (1H, d, 5,1)	3, 3b e 5	H-5
5	141,96 d	8,73 (1H, d, 5,1)	3a, 4 e 6a	H-4
6a	145,08 s			
7	184,58 s			
7a	130,62 s			
8	128,89 d	8,41 (1H, ddd, 8,0, 1,6 e 0,5)	7, 10 e 11a	
9	125,57 s	7,33 (1H, ddd, 8,0, 7,0 e 1,0)	7a e 11	
10	135,14 d	7,68 (1H, ddd, 8,6, 7,0 e 1,6)	8 e 11a	
11	127,38 d	9,08 (1H, ddd, 8,6, 1,0 e 0,5)	1a, 7a e 9	H-10 e 1-OCH ₃
11a	138,79 s			
1-OCH ₃	61,29 q	4,08 (3H, s)	1	
2-OCH ₃	60,67 q	3,97 (3H, s)	2	1-OCH ₃
3-OH				

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G40** apresentou-se como um sólido alaranjado escuro, p.f. 283-284°C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_4$ (calculado 305,0688) deduzida com base no espectro de RMN de ^1H .

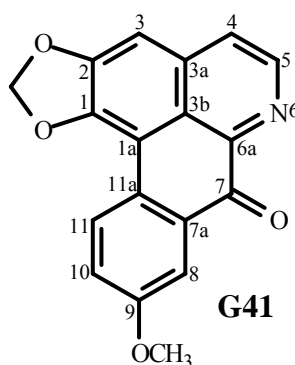
Pela análise do espectro de RMN de ^1H (ANEXO I - E159 e E160) de **G40** (400 MHz, CDCl_3), observou-se similaridades quando comparado com os dados de RMN de ^1H de **G28**, diferenciando de **G28** pela ausência de um do sinal do hidrogênio aromático em δ 7,16 (1H, s, H-3) e a presença de um sinal em δ 4,28 (3H, s, 3-CH₃) típico de grupo metoxílico substituído em C-3. A presença dos hidrogênios do anel D não substituído do esqueleto oxoaporfínico foi verificada em δ 7,67 (1H, ddd, J = 8,2, 7,2 e 1,5 Hz, H-10), δ 7,48 (1H, ddd, J = 8,2, 7,3 e 1,0 Hz, H-9), δ 8,51 (1H, dl, J = 7,7 Hz, H-11) e δ 8,53 (1H, dd, J = 7,7 e 1,4 Hz, H-8) (TABELA 44).

Comparações com os dados descritos na literatura (CHEN *et al.*, 1997), permitiu-nos concluir que o composto **G40** trata-se do alcalóide oxoaporfínico *atherospermidina*, substância também amplamente encontrada em espécies da família Annonaceae.

TABELA 44. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G40**^a

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^b
4	8,12 (1H, d, 5,3)	8,18 (1H, d, 5,2)
5	8,88 (1H, d, 5,3)	8,92 (1H, d, 5,2)
8	8,53 (1H, dd, 7,7 e 1,4)	8,57 (1H, dd, 8,4 e 1,6 Hz)
9	7,48 (1H, ddd, 8,2, 7,3 e 1,0)	7,52 (1H, td, 8,4 e 0,8)
10	7,67 (1H, ddd, 8,2, 7,2 e 1,5)	7,74 (1H, td, 8,4 e 1,6 Hz)
11	8,51 (1H, dl, 7,7)	8,62 (1H, dd, 8,4 e 0,8 Hz)
(1-2)-OCH ₂ O	6,32 (2H, s)	6,34 (2H, s)
3-OCH ₃	4,28 (3H, s)	4,31 (3H, s)

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b CHEN *et al.*, 1997 (400 MHz, CDCl₃). (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G41** apresentou-se como um sólido alaranjado em forma de agulhas, p.f. > 300°C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₈H₁₁NO₄ (calculado 305,0688) deduzida com base no espectro de RMN de ^1H .

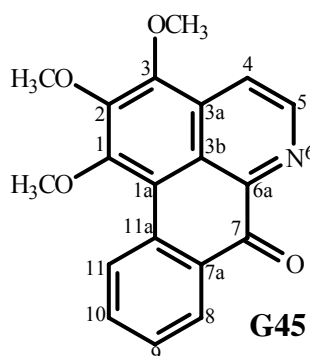
O espectro de absorção na região do UV (ANEXO I - E161) de **G41** apresentou similaridades quando comparado com os espectros de absorção no UV de **G26**, **G28** e **G40**. O mesmo foi observado para o espectro de RMN de ^1H (ANEXO I - E162 e E163) de **G41** (400 MHz, CDCl₃) em relação ao espectro de ^1H de **G28**, diferenciando de **G28** pela ausência de um dos sinais dos hidrogênios aromáticos do anel D e a presença de um sinal em δ 3,99 (3H, s, 9-CH₃) típico de grupo metoxílico. A presença de um sistema ABX foi evidenciada pelos sinais dos hidrogênios em δ 8,57 (1H, d, J = 8,9 Hz), δ 8,02 (1H, d, J = 2,9 Hz) e δ 7,31 (1H, d, J = 8,9 Hz e 2,9 Hz), atribuídos respectivamente a H-11, H-8 e H-10, indicando uma substituição no anel D (TABELA 45).

Comparações com os dados descritos na literatura (WIJERATNE *et al.*, 1996), permitiu-nos concluir que o composto **G41** trata-se do alcalóide oxoaporfínico *lanuginosina*. **G40** e **G41** são compostos regioisômeros.

TABELA 45. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G41**^a

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^b
3	7,15 (1H, s)	7,08 (1H, s)
4	7,78 (1H, d, 5,2)	7,73 (1H, d, 5,1)
5	8,89 (1H, d, 5,2)	8,86 (1H, d, 5,1)
8	8,02 (1H, d, 2,9)	7,98 (1H, d, 2,4)
9		
10	7,31 (1H, dd, 8,9 e 2,9)	7,24 (1H, dd, 8,8 e 2,2)
11	8,57 (1H, d, 8,9)	8,48 (1H, d, 8,8)
(1-2)-OCH ₂ O	6,35 (2H, s)	6,33 (2H, s)
9-OCH ₃	3,99 (3H, s)	3,99 (3H, s)

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b WIJERATNE *et al.*, 1996 (400 MHz, CDCl_3). (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G45** apresentou-se como um sólido alaranjado em forma de agulhas, p.f. = 187-188 °C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ (calculado 321,1001) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de absorção na região do UV (ANEXO I - E164) e IV (ANEXO I - E165) de **G45** apresentaram similaridades quando comparado com os espectros de absorção no IV e UV de **G26**, **G28** e **G41**. O mesmo foi observado para os espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E166) e ^{13}C (ANEXO I - E167) (400 e 100 MHz, CDCl_3) de **G45** em relação aos espectros de ^1H e ^{13}C de **G26**, diferenciando de **G26** pela ausência do sinal em δ 7,23 (1H, s) no espectro de ^1H e δ 106,48 no espectro de ^{13}C atribuído a H-3/C-3, e a presença de um sinal de grupo metoxílico a mais em δ 4,20 (3H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 61,81 no

mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E168), provavelmente substituído em C-3 (TABELA 46).

O grupo metoxílico substituído em C-3 foi confirmado pela análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E169) devido à correlação a J^3 do sinal em δ 8,24 (H-4) com o sinal do carbono em δ 148,45 portador do grupo metoxílico em δ 4,20 (3-OCH₃) no espectro de RMN de ^1H (FIGURA 44, TABELA 46).

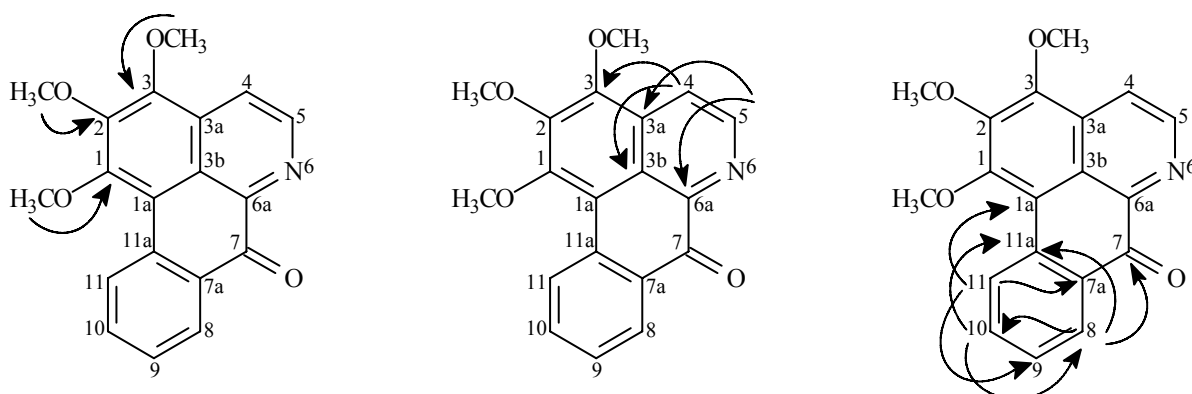


FIGURA 44. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G45**.

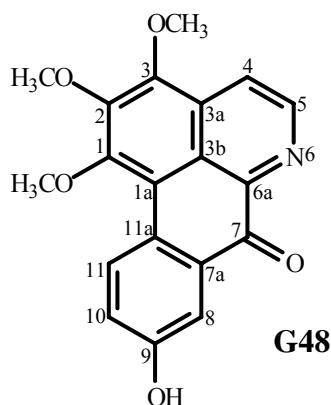
Na TABELA 46 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G45** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura, elucidando-o como sendo o alcalóide oxoaporfínico conhecido como *O-metilmoschatolina* encontrando também com frequência em espécies da família Annonaceae, podendo ser considerado um marcador quimiotaxonômico. Observa-se pela TABELA 46 que alguns valores de ^1H e ^{13}C estão trocados e foram corrigidos nesse trabalho com o auxílio das técnicas bidimensionais.

TABELA 46. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G45**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^c	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,d}
1	156,49 s	145,6 s			
1a	115,66 s	115,6 s			
2	147,35 s	147,4 s			
3	148,45 s	148,5 s			
3a	131,10 s	131,0 s			
3b	122,82 s	122,8 s			
4	119,18 d	119,0 d	8,24 (1H, d, 5,3)	8,13 (1H, d, 5,5)	3, 3b e 5
5	144,52 d	144,5 d	9,00 (1H, d, 5,3)	8,88 (1H, d, 5,5)	3a, 4 e 6a
6a	145,47 s	156,5 s			
7	182,63 s	182,5 s			
7a	131,43 s	131,5 s			
8	128,92 d	128,1 d	8,57 (1H, dd, 7,9 e 1,4)	8,48 (1H, dd, 9,0 e 3,0)	7, 10 e 11a
9	128,16 d	127,7 d	7,54 (1H, ddd, 7,9, 7,2 e 1,1)	7,69 (1H, dd, 9,0 e 3,0)	7a, 10 ^e e 11
10	134,38 d	134,3 d	7,75 (1H, ddd, 8,4, 7,2 e 1,5)	7,44 (1H, dd, 9,0 e 3,0)	8, 9 ^e e 11a
11	127,66 d	128,9 d	9,11 (1H, ddd, 8,4, 1,1 e 0,6)	9,00 (1H, dd, 9,0 e 3,0)	1a, 7a e 9

11a	134,54 s	134,6 s			
1-OCH ₃	61,01 q	60,9 q	4,08 (3H, s)	4,07 (3H, s)	1
2-OCH ₃	61,48 q	61,4 q	4,11 (3H, s)	4,19 (3H, s)	2
3-OCH ₃	61,81 q	61,8 q	4,20 (3H, s)	4,10 (3H, s)	3

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com GUINAUDEAU *et al.* (1983). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G48** apresentou-se como um sólido alaranjado em forma de agulhas, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₉H₁₅NO₅ (calculado 337,0905) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C.

O espectro de absorção na região do UV (ANEXO I - E170) de **G45** apresentou algumas similaridades quando comparado com os espectros de absorção no IV e UV de **G26**, **G28**, **G40**, **G41** e **G45**. O mesmo foi observado para os espectros na região do IV (ANEXO I - E171), diferindo dos compostos acima mencionados pela presença de uma absorção larga em 3431 cm⁻¹ característica de grupo hidroxila fenólica.

Pelas análises comparativas dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E172) e ¹³C (ANEXO I - E173) (400 e 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G48** em relação aos espectros de ¹H e ¹³C de **G45**, verificou-se também algumas similaridades, diferenciando de **G45** pela ausência de um sinal de hidrogênio aromático no anel D, sugerindo uma substituição neste anel, sendo esse substituinte um provável grupo hidroxila de acordo com as informações contidas no espectro de absorção na região do IV. A presença de um sistema ABX foi evidenciada pelos sinais dos hidrogênios em δ 8,96 (1H, d, J = 9,0 Hz), δ 7,82 (1H, d, J = 2,8 Hz) e δ 7,25 (1H, dd, J = 9,0 e 2,8 Hz) correlacionados aos carbonos δ 129,94, δ 113,48 e δ 123,21 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E174), atribuídos respectivamente a H-11/C-11, H-8/C-8 e H-10/C10, evidenciando uma substituição no anel D (TABELA 47).

A substituição no anel D de **G48** em C-9 foi confirmada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E175) devido à correlação do sinal em δ 8,96 (H-11) a J^3 com o sinal do carbono em δ 157,53 (C-9), o qual não evidenciou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos, indicando um grupo hidroxila substituído nesta posição (FIGURA, 45, TABELA 47).

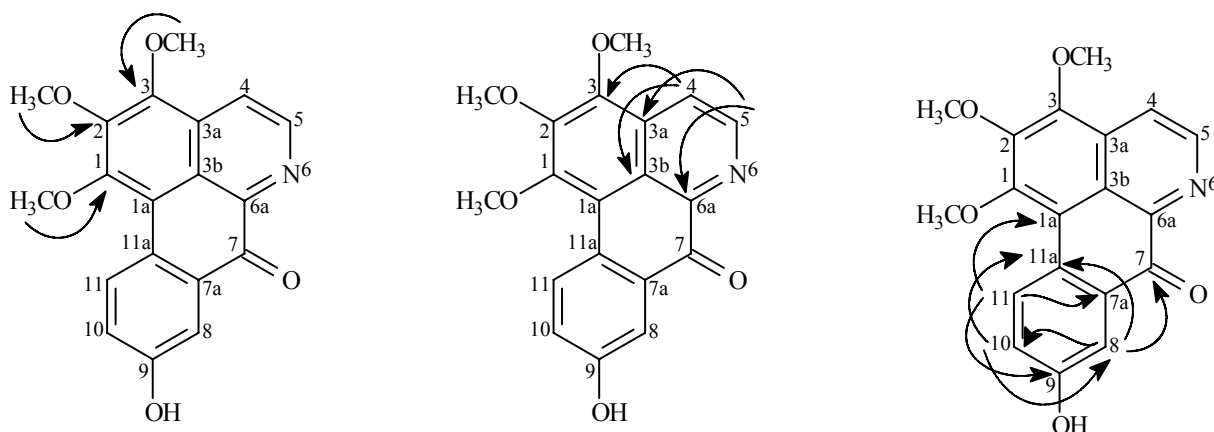


FIGURA 45. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G48**.

Na TABELA 47 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G48** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura, elucidando-o como sendo o alcalóide oxoaporfínico conhecido como *subsessilina* (HASEGAWA *et al.*, 1972), encontrado na espécie *Guatteria ouregou* (Annonaceae). Este é o segundo registro do seu isolamento na família Annonaceae. Os dados de ^{13}C são relatados pela primeira vez.

TABELA 47. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G48**^a

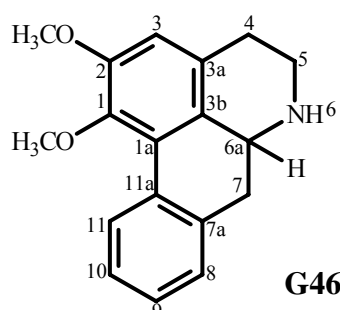
Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	155,55 s		
1a	116,23 s		
2	147,91 s		
3	147,53 s		
3a	131,41 s		
3b	122,20 s		
4	119,86 d	8,24 (1H, d, 4,7)	3, 3b e 5
5	144,04 d	8,88 (1H, d, 4,7)	3a, 4 e 6a
6a	145,12 s		
7	183,11 s		
7a	132,67 s		
8	113,48 d	7,82 (1H, d, 2,8)	7, 7a ^d , 9 ^d , 10 e 11a
9	157,35 s		
10	123,21 d	7,25 (1H, dd, 9,0 e 2,8)	8, 9 e 11a
11	129,94 d	8,96 (1H, d, 9,0)	1a, 7 ^d , 7a, 8 ^d e 9
11a	126,89 s		

1-OCH ₃	60,92 q	4,05 (3H, s)	1
2-OCH ₃	61,93 q	4,11 (3H, s)	2
3-OCH ₃	61,49 q	4,17 (3H, s)	3

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO APORFINOS

5.1.4.1. DETERMINAÇÃO DE G46



O composto **G46** apresentou-se como um sólido amorfo marrom, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₁₈H₁₉NO₂ (calculado 281,1416) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E176 e 177) e ¹³C (ANEXO I - E178) (400 e 100 MHz, CDCl₃).

Pela análise do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) (ANEXO I - E176 e E177) juntamente com a análise do mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E179) verificou-se a presença de sinais de hidrogênios diastereotópicos para três grupos metilênicos em δ 3,12 (1H, m) / δ 2,76 (1H, dd J = 15,8 e 2,6 Hz), δ 3,49 (1H, dd, J = 12,0 e 5,0 Hz) / δ 3,06 (1H, dd, J = 12,0 e 2,6 Hz), e δ 2,97 (1H, dd, J = 13,8 e 4,7 Hz) / δ 2,86 (1H, t, J = 13,7 Hz) típicos dos hidrogênios, H-4_{Pseudoax}/H-4_{Pseudoeq}, H-5_{Pseudoeq}/H-5_{Pseudoax} e H-7_{Pseudoeq}/H-7_{Pseudoax}, correlacionados respectivamente aos sinais dos carbonos em δ 28,31, δ 42,67 e δ 36,68, bem como um sinal de um hidrogênio metínico em δ 3,93 (1H, dd, J = 13,6 e 4,8 Hz) correlacionado ao sinal do carbono em δ 53,41, característico de H-6a/C-6a (BLANCHFIELD *et al.*, 2003). Observou-se ainda dois sinais na forma de singletos em δ 3,66 e 3,89 ambos com integração para três hidrogênios, típicos de grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2, respectivamente (GUINAUDEAU *et al.*, 1975, 1979, 1983, 1988 e 1994), sugerindo um alcalóide do tipo aporfinico *sensu stricto* dissubstituído. Na região dos hidrogênios aromáticos

observou-se a presença de quatro sinais com integração para cinco hidrogênios aromáticos, sendo três em δ 8,39 (1H, dl, $J = 7,7$ Hz), δ 7,31 (1H, m) e δ 7,23 (2H, m) típicos dos hidrogênios aromáticos H-11, H-10 e H-9/H-8, respectivamente do anel D não substituído do sistema aporfínico, e um em δ 6,65 (1H, s), característico de H-3 do anel A do sistema aporfínico dissustituído (TABELA 48).

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C (ANEXO I - E178), gHSQC (ANEXO I - E179) e gHMBC (ANEXO I - E180) observou-se a presença de 21 carbonos sendo 12 aromáticos entre δ 152,54 e δ 111,77, três metilênicos em δ 42,67, 36,68 e 28,31 característicos de C-5, C-8 e C-4, respectivamente, um metínico em δ 53,41 atribuído a C-6a e dois metoxílicos em δ 60,28 (1-OCH₃) e δ 55,95 (2-OCH₃) consistente com a estrutura de **G48** (TABELA 48).

Os grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2 foram confirmados devido a correlação do sinal em δ 6,65 (H-3) no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E180) a J^3 com o sinal do carbono em δ 145,50 (C-1) portador do grupo metoxílico em δ 3,66 (1-OCH₃) e a J^2 com o sinal do carbono oxigenado em δ 152,54 (C-2) portador do grupo metoxílico em δ 3,89 (2-OCH₃). Este sinal (δ 6,65) mostrou ainda correlação a J^3 com o sinal do carbono metilênico em δ 28,31 (C-4), confirmando sua localização no anel A (FIGURA 46, TABELA 48).

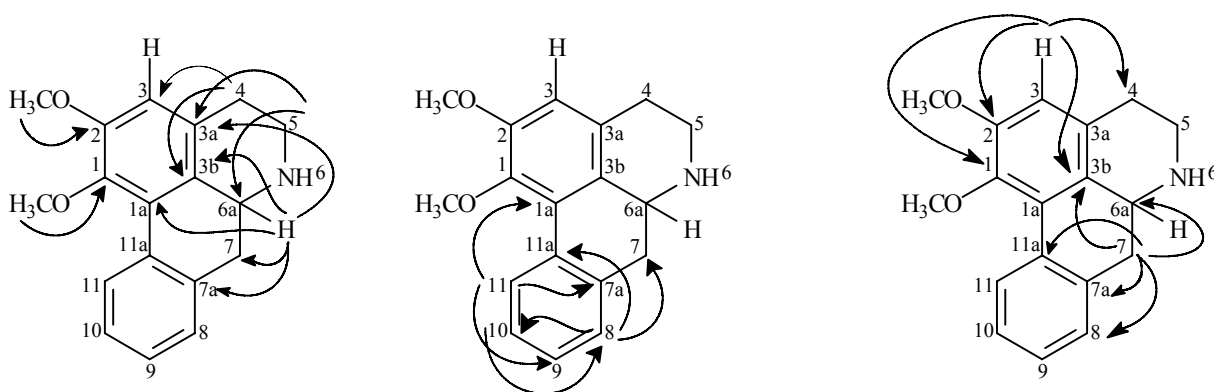


FIGURA 46. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G46**.

Na TABELA 48 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G46** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura elucidando-o como sendo o alcalóide aporfínico *nornuciferina*. Conforme observado na TABELA 48 alguns valores publicados recentemente para esse composto (ORTIZ *et al.*, 2007) apresentam-se trocados, sendo corrigidos neste trabalho. Apenas o valor do sinal do carbono em δ 125,1(C-3b) observado por ORTIZ *et al.* (2007) não foi observado nos nossos

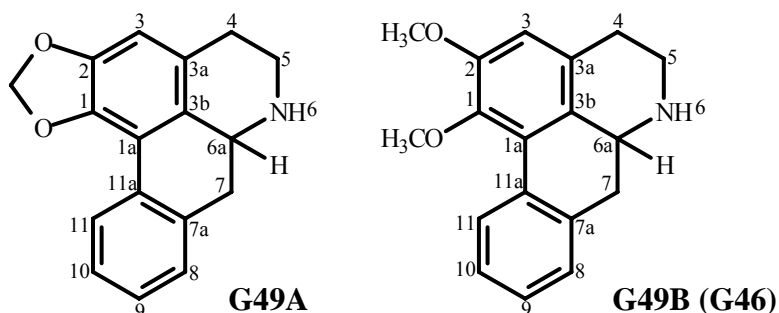
experimentos, acreditamos que esse dado não faz parte da molécula. Os resultados obtidos neste trabalho não apresentam ambigüidades.

TABELA 48. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G46**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,d}
1	145,50 s	145,7 s			
1a	126,71 s	126,8 s			
2	152,54 s	152,9 s			
3	111,77 d	111,6 d	6, 65 (1H, s)	6,65 (1H, s)	1, 2 ^e , 3a ^e , 3b, 4 e 6a ^e
3a	128,15 s	127,3 s			
3b	127,08 s	125,1 s			
4 ^{Pseudoax}			3,12 (1H, m)	3,29 (1H, m, 5,6)	3a, 3b e 5
4 ^{Pseudoeq}	28,31 t	27,2 t	2,76 (1H, dd, 15,8 e 2,6)	2,82 (1H, dd, 16,4 e 3,2)	3, 3a, 3b e 5
5 ^{Pseudoax}			3,06 (1H, dd, 12,0 e 2,6)	3,12 (1H, m, 13,8 e 4,2)	3a, 4 e 6a
5 ^{Pseudoeq}	42,67 t	42,1 t	3,49 (1H, dd, 12,0 e 5,0)	3,61 (1H, dd, 12,1 e 5,9)	3a, 4 e 6a
6a	53,41 d	53,2 d	3,93 (1H, dd, 13,6 e 4,8)	4,05 (1H, m)	1a ^e , 7, 7a, 3a e 3b
7 ^{Pseudoax}			2,86 (1H, t, 13,7)	3,03 (1H, t, 13,7)	3a, 3b, 6a, 7a, 8 e 11a
7 ^{Pseudoeq}	36,68 t	35,6 t	2,97 (1H, dd, 13,8 e 4,7)	3,12 (1H, dd, 13,8 e 4,2)	3a ^e , 3b, 6a, 7a, 8 e 11a
7a	135,47 s	131,7 s			
8	127,91 d	127,7 d	7,23 (1H, m)	7,25 (1H, m)	10 e 11a
9	127,57 d	128,0 d	7,23 (1H, m)	7,25 (1H, m)	7a e 11
10	127,21 d	127,4 d	7,31 (1H, m)	7,32 (1H, m)	8 e 11a
11	128,48 d	128,5 d	8,39 (1H, d, 7,7)	8,39 (1H, d, 7,8)	1a, 7a e 9
11a	132,03 s	134,6 s			
1-OCH ₃	60,28 q	60,2 q	3,66 (3H, s)	3,66 (3H, s)	1
2-OCH ₃	55,95 q	55,9 q	3,89 (3H, s)	3,89 (3H, s)	2

^a O experimento foi realizado a 400 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Dados da literatura de acordo com ORTIZ *et al.* (2007) (H; 400 MHz, C; 100 MHz, CDCl_3). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.4.2. DETERMINAÇÃO DE G49



O composto **G49** apresentou-se como um sólido amorfo marrom e teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff. Pela análise preliminar dos espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E181 e E182), e mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E183) e gHMBC (ANEXO I - E184) (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) observou-se sinais referentes a

mistura de dois alcalóides. Quando comparado com os dados espectrais de **G46** observou-se algumas similaridades, estando presente na mistura o composto **G46 (G49B)** *nornuciferina* de acordo com as informações contidas nos mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 49). Já o outro composto presente na mistura (**G49A**) apresentou sinais característicos do alcalóide aporfinico *sensu stricto* conhecido como *anonaina*, de acordo com os mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 49), além de comparações com os dados descritos na literatura (ORTIZ *et al.*, 2007).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos pela análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC de ambos os compostos apresentam várias similaridades, porém o composto **G49A** diferencia do composto **G49B** pela presença de dois sinais na forma de dubletos ($J = 1,4$ Hz) em δ 6,09 (1H) e δ 5,94 (1H), correlacionados ao sinal do carbono em δ 100,76 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E183), característicos dos hidrogênios e carbono do grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2 (ORTIZ *et al.*, 2007) e ausência de grupos metoxílicos observados para **G49B**.

Os sinais dos grupos metoxílicos de **G49A** substituídos em C-1 e C-2 foram observados em δ 3,66 e 3,89 correlacionados aos carbonos em δ 60,45 e δ 55,97 no mapa de contorno gHSQC, estando de acordo com as atribuições feitas para o composto **G46**, discutido anteriormente.

Os sinais dos hidrogênios aromáticos H-11 e H-3 de ambos os compostos (**G49A** e **G49B**) foram facilmente definidos devido apresentarem deslocamentos químicos distintos e fundamentais para a diferenciação de ambos os compostos. Assim os sinais dos hidrogênios aromáticos H-11 e H-3 de **G49A** foram observados em δ 8,08 (1H, d, $J = 7,6$ Hz) e δ 6,57 (1H, s), correlacionados aos carbonos em δ 127,14 e δ 107,98, respectivamente, enquanto que os sinais de H-11 e H-3 de **G49B** foram observados em δ 8,39 e δ 6,65, correlacionados aos carbonos em δ 128,63 e δ 111,96, respectivamente. Os demais sinais apresentaram deslocamentos químicos muito próximos, bem como sobreposições, porém foram diferenciados pela análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC.

A atribuição das substituições no anel A de **G49A** foi definida pela correlação no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E184) a J^3 e a J^2 do sinal em δ 6,57 (H-3) com os sinais dos carbonos oxigenados em δ 142,60 e δ 147,08, respectivamente, definindo assim o grupo metilenodióxi substituídos em C-1 e C-2 de **G49A**. Para **G49B** observou-se que o sinal em δ 6,65 evidenciou correlações a J^3 e a J^2 com o sinal dos carbonos oxigenados em 145,34 e 152,43 portadores dos grupos metoxílicos em δ 3,66 (1-OCH₃) e δ 3,89 (2-OCH₃), definindo

assim os grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2, respectivamente (FIGURA 47, TABELA 49).

Na TABELA 49 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G49A** e **G49B** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados da literatura elucidando-o como sendo uma mistura dos alcalóides aporfinicos *sensu stricto anonaina* e *nornuciferina*, respectivamente, substâncias amplamente encontradas em espécies da família Annonaceae, podendo ser consideradas marcadores quimiotaxonômicos.

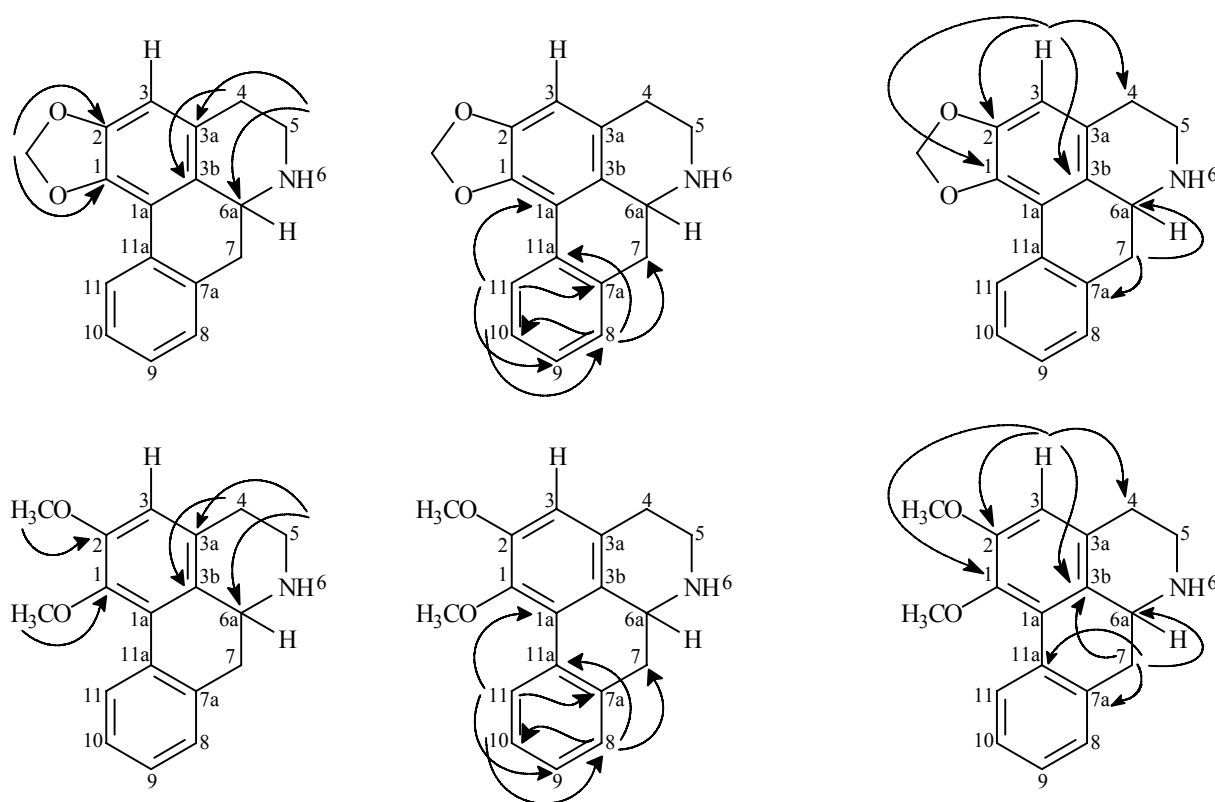


FIGURA 47. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC da mistura dos alcalóides **G49A** e **G49B**.

TABELA 49. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G49A**^a e **G49B**^a

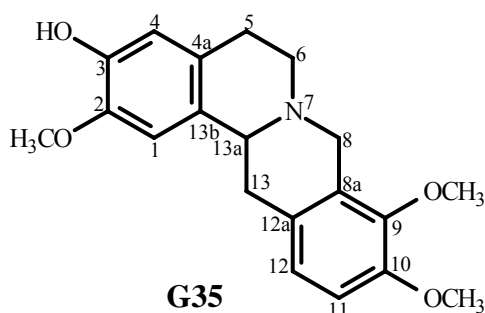
Posição	G49A (Anonaina)			G49B (Nornuciferina)		
	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	^{13}C (δ) ^b	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	142,60 s			145,34 s		
1a	116,10 s			126,55 s		
2	147,08 s			152,43 s		
3	107,98 d	6,57 (1H, s)	1, 2 ^d , 3b e 4	111,96 d	6,65 (1H, s)	1, 2 ^d , 3b e 4
3a	127,80 s			127,80 s		
3b	126,55 s			126,80 s		
4 Pseudoax	28,51	3,05 (1H, m)	3b		3,10 (1H, m)	3a ^d e 3b
4 Pseudoeq		2,70 (1H, m)	3b	28,13 t	2,75 (1H, m)	3a ^d e 3b
5 Pseudoax	43,03	3,06 (1H, m)	3a e 6a		3,05 (1H, m)	3a e 6a
5 Pseudoeq		3,46 (1H, m)	3a e 6a	43,03 t	3,48 (1H, m)	3a e 6a

6a	53,48	3,92 (1H, dd, 14,0 e 4,9)	53,48 d	4,03 (1H, dd, 13,9 e 4,8)	
7 ^{Pseudoax}	36,81	2,87 (1H, m)	6a e 7a	2,96 (1H, m)	3b, 6a e 7a
7 ^{Pseudoeq}		2,99 (1H, m)	6a e 7a	3,01 (1H, m)	6a, 7a e 11a
7a	134,51			135,26 s	
8	127,67	7,22 (1H, m)	7a, 10, 11 e 11a	127,92 d	7,22 (1H, m)
9	127,67	7,22 (1H, m)	7a, 10, 11 e 11a	127,92 d	7,22 (1H, m)
10	127,17	7,31 (1H, m)	8 e 11a	127,39 d	7,31 (1H, m)
11	127,14	8,08 (1H, d, 7,6)	1a, 7a e 9	128,63 d	8,39 (1H, d, 7,7)
11a	131,53			131,53 s	
1-OCH ₃				60,45 q	3,66 (3H, s)
2-OCH ₃				55,97 q	3,89 (3H, s)
(1-2)-OCH ₂ O	100,76	6,09 (1H, d, 1,4)	1 e 2		1
		5,94 (1H, d, 1,4)	1 e 2		2

^a O experimento foi realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃ + gotas de CD₃OD, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelo mapa de contorno gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALÓIDES DO TIPO PROTOBERBERÍNICOS

5.1.5.1. DETERMINAÇÃO DE G35, G36, G37, G42 E G47



O composto **G35** apresentou-se como um sólido amarelo claro em forma de agulhas quando recrystalizado em CHCl₃:MeOH 2:1, p.f. = 237-238° C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₀H₂₃NO₄ (calculado 341,1627) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E185) de **G35** observou-se uma banda larga em 3433 cm⁻¹ típica de hidroxila fenólica.

Pela análise preliminar dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E186 e 187) e ¹³C (ANEXO I - E188) (500 e 125 MHz, CDCl₃) observou-se característica de um alcalóide do tipo tetraidroprotoberberínico.

Pela análise do espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) juntamente com a análise do mapa de contorno gCOSY (ANEXO I - E189 e 190) e gHSQC (ANEXO I -

E191) verificou-se a presença de sinais de hidrogênios diastereotópicos para quatro grupos metilênicos em δ 3,08 (1H, ddd, $J = 16,1, 11,5$ e $4,2$ Hz) / δ 2,65 (1H, m), δ 3,19 (1H, m) / δ 2,63 (1H, m), δ 4,22 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) / δ 3,54 (1H, d, $J = 16,1$ Hz), e δ 3,28 (1H, dd, $J = 15,8$ e $3,5$ Hz) / δ 2,84 (1H, dd, $J = 15,8$ e $11,5$ Hz) típicos dos hidrogênios, H-5_{Pseudoax}/H-5_{Pseudoeq}, H-6_{Pseudoeq}/H-6_{Pseudoax}, H-8_{Pseudoeq}/H-8_{Pseudoax}, e H-13_{Pseudoeq}/H-13_{Pseudoax}, correlacionados aos sinais dos carbonos em δ 28,47, δ 51,60, δ 53,93 e δ 35,97, respectivamente, bem como um sinal de um hidrogênio metínico em δ 3,57 (1H, dd, $J = 11,5$ e $3,5$ Hz) correlacionado ao sinal do carbono em δ 59,47 característico de H-13a (BLANCHFIELD *et al.*, 2003). Estes hidrogênios metilênicos juntamente com o sinal do hidrogênio metínico em δ 3,57 confirmaram o sistema tetraidroprotoberberínico da molécula (TABELA 50).

Observou-se também três sinais em δ 3,89, δ 3,859 e 3,852 todos singletos com integração para três hidrogênios, típicos de grupos metoxílicos. Pelo espectro de RMN ¹H observou-se ainda quatro sinais típicos de hidrogênios aromáticos, sendo dois sinais em δ 6,72 (s, 1H) e δ 6,64 (s, 1H) atribuídos a dois hidrogênios aromáticos isolados situados em posição *para* característicos de anel benzênico 2,3,5-6-tetrassubstituído, e dois em δ 6,90 (1H) e δ 6,81 (1H) ambos dubletos com constante de acoplamento *orto* em torno de 8,4 Hz sugerindo outro anel benzênico tetrassubstituído. Estes hidrogênios aromáticos podem estar localizados no anel A ou anel D do esqueleto tetraidroprotoberberínico, sendo fundamental a análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC para estabelecer o padrão de substituição dos anéis A e D (TABELA 50).

Pela análise dos espectros de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) (ANEXO I - E188), gHSQC (ANEXO I - E191) e gHMBC (ANEXO I - E192) observou-se a presença de 20 carbonos, sendo 12 aromáticos entre δ 150,38 e δ 108,28, três metoxílicos em δ 60,28, δ 56,16 e δ 55,91, um metínico em δ 59,47 típico de C-13a, e quatro metilênicos em δ 53,93 (C-8), δ 51,60 (C-6), δ 35,97 (C-13) e δ 28,47 (C-5) confirmando a presença do esqueleto tetraidroprotoberberínico estando de acordo com as informações contidas no espectro de RMN de ¹H, consistente com a estrutura de **G35** (TABELA 50). Verificou-se também que o sinal do carbono em δ 144,39 típico de carbono aromático oxigenado, não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos, indicando provavelmente a presença de um grupo hidroxila presente na molécula, estando de acordo com as informações contidas no espectro no infravermelho, podendo estar localizado no anel A ou anel B.

As corretas posições dos hidrogênios aromáticos foram determinadas pelas análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 50) com os carbonos aromáticos vicinais e alifáticos. Os sinais dos hidrogênios em δ 6,72 ligado ao carbono δ 108,28 e δ 6,64 ligado ao carbono δ 114,69 foram atribuídos a H-1 e H-4, respectivamente definindo assim o sistema *para* no anel A, e os sinais dos hidrogênios em δ 6,90 e δ 6,81 foram atribuídos a H-12 e H-11, respectivamente definindo assim o sistema *orto* no anel D. A existência da correlação do sinal em δ 6,64 (H-4) com o sinal a J^3 do carbono em δ 28,47 (C-5), e δ 6,72 (H-1) com o sinal a J^3 do carbono em δ 59,47 (C-13a) indicou a posição de ambos os hidrogênios aromáticos sem ambigüidades. Conseqüentemente o sistema *orto* foi definido no anel D pela correlação do sinal em δ 6,90 (H-12) ligado ao carbono em δ 124,08, a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 35,97 (C-13) e δ 128,23 (C-8a), e do sinal em δ 6,81 (H-9) ligado ao carbono δ 111,18, com os sinais dos carbonos em δ 127,51 (C-12a) e δ 144,99 (C-9) (FIGURA 48, TABELA 50).

Pelo mapa de contorno gHMBC pôde-se definir as corretas posições dos grupos hidroxila e metoxílicos. Assim observou-se que o sinal em δ 6,72 (H-1) mostrou uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 144,39, atribuindo assim o grupo hidroxila em C-3, e o sinal em δ 6,64 (H-4) apresentou uma forte correlação com o sinal em δ 145,80, atribuindo um dos grupos metoxílicos em C-2. Já o sinal em δ 6,90 (H-12) mostrou uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 150,38 confirmando assim o segundo grupo metoxílico em C-10, e o sinal em δ 6,81 (H-12) uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 144,99 estabelecendo o terceiro grupo metoxílico em C-9 (FIGURA 48, TABELA 50). As corretas atribuições foram ainda confirmadas pela análise de NOESY (TABELA 50).

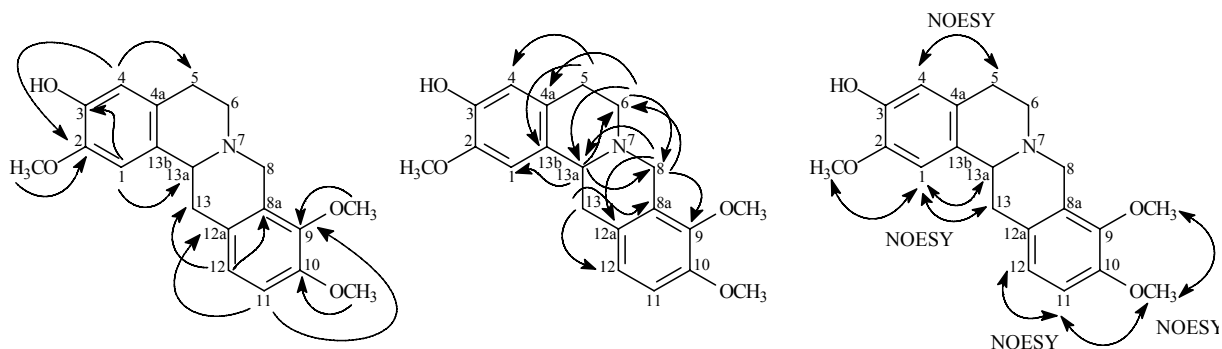


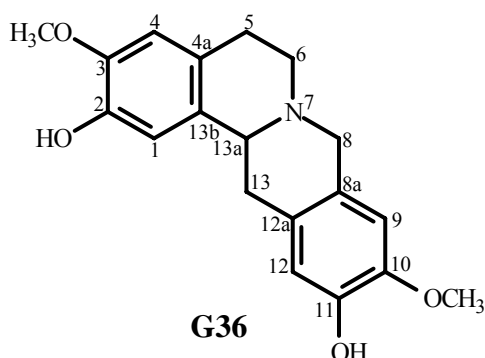
FIGURA 48. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOESY de G35.

Na TABELA 50 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G35** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo o alcalóide tetraidroprotoberberínico conhecido como *corypalmina* ou *discretinina*. Os dados publicados para esse compostos são incompletos e apresentam algumas ambigüidades, sendo corrigidos nesse trabalho.

TABELA 50. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G35**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gCOSY ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOESY ^{a,d}
1	108,28 d	6,72 (1H, s)		3, 4a, 4 ^e e 13a	2-OCH ₃ , H-13a e H-13 _{Pseudoeq}
2	145,80 s				
3	144,39 s				
4	114,69 d	6,64 (1H, s)		2, 5 e 13b	
4a	127,12 s				H-5 _{Pseudoax} e H-5 _{Pseudoeq}
5 _{Pseudoax}		3,08 (1H, ddd, 16,1, 11,5 e 4,2)	H-5 _{Pseudoeq} , H-6 _{Pseudoax} e H-6 _{Pseudoeq}	4a, 6 e 13b	
5 _{Pseudoeq}	28,47 t	2,65 (1H, m)	H-5 _{Pseudoax} , H-6 _{Pseudoax} e H-6 _{Pseudoeq}	4, 4a ^e , 6 ^e e 13b	
6 _{Pseudoax}		2,63 (1H, m)	H-6 _{Pseudoeq} , H-5 _{Pseudoax} e H-5 _{Pseudoeq}	4a, 5 ^e e 13a	
6 _{Pseudoeq}	51,60 t	3,19 (1H, m)	H-6 _{Pseudoax} , H-5 _{Pseudoax} e H-5 _{Pseudoeq}	4a, 5, 8 e 13a	
8 _{Pseudoax}		3,54 (1H, d, 16,1)	H-8 _{Pseudoeq}	6, 8a ^e , 9 e 13a	
8 _{Pseudoeq}	53,93 t	4,22 (1H, d, 16,0)	H-8 _{Pseudoax}	6, 8a ^e , 9, 12a e 13a	
8a	128,23 s				
9	144,99 s				
10	150,38 s				
11	111,18 s	6,81 (1H, d, 8,4)	H-12	8a, 10 e 13	10-OCH ₃ e H-12
12	124,08 d	6,90 (1H, d, 8,4)	H-11	9, 10 ^e e 12a	H-11, H-13a e H13 _{Pseudoeq}
12a	127,51 s				
13ax		2,84 (1H, dd, 15,8 e 11,5)	H-13 _{Pseudoeq} e H-13a	12, 12a e 13a	
13eq	35,97 t	3,28 (1H, dd, 15,8 e 3,5)	H-13 _{Pseudoax} e H-13a	8a, 12 e 12a	
13a	59,47 d	3,57 (1H, dd, 11,5 e 3,5)	H-13 _{Pseudoax} e H-13 _{Pseudoeq}	1, 6, 8 e 13b	
13b	128,68 s				
2-OCH ₃	56,16 q	3,89 (3H, s)		2	1
3-OH					
9-OCH ₃	60,28 q	3,852 (3H, s)		9	10-OCH ₃
10-OCH ₃	55,91 q	3,859 (3H, s)		10	9-OCH ₃ e H-11

^a Experimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação espacial ^1H - ^1H . ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G36** apresentou-se como um sólido amarelo claro em forma de agulhas quando recristalizado em $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 2:1, p.f. = 240-241°C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (calculado 327,1470) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E193) de **G36** observou-se uma banda larga em 3472 cm^{-1} típica de hidroxila fenólica.

Pelas análises dos espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E194 e E195) e ^{13}C (ANEXO I - E196) (500 e 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) observou-se algumas similaridades quando comparados com os espectros de RMN de **G35**, diferindo de **G35** pela ausência de um grupo metoxílico e a provável presença de um grupo hidroxila a mais na molécula, localizado provavelmente no anel D baseado no modelo de **G35**. Observou-se também a ausência do sistema *orto* e a presença de mais um sistema *para* devido os sinais dos hidrogênios isolados em δ 6,61 (1H, s) e δ 6,65 (1H, s) correlacionados aos sinais dos carbonos em δ 109,56 e δ 115,47 (TABELA 51) no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E197).

A presença de um grupo hidroxila a mais na molécula foi evidenciada com base na análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E198) com o sinal do carbono em δ 145,16 típica de carbono aromático oxigenado que não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos.

Assim como observado para **G35**, as posições dos hidrogênios aromáticos de **G36** foram determinadas pelas análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 51) com os carbonos aromáticos vicinais e alifáticos. Os sinais dos hidrogênios em δ 6,76 ligado ao carbono em δ 112,47 e δ 6,63 ligado ao carbono δ 111,87 foram atribuídos a H-1 e H-4, respectivamente definindo um dos sistemas *para* no anel A, e os sinais dos hidrogênios em δ 6,65 ligado ao carbono em δ 115,47 e δ 6,61 ligado ao carbono em δ 109,56 foram atribuídos a H-12 e H-9, respectivamente definindo assim o outro sistema *para* no anel D. A existência da correlação do sinal em δ 6,63 (H-4) com o sinal a J^3 do carbono em δ 28,77 (C-5) e δ 6,76 (H-1) com o sinal a J^3 do carbono em δ 60,26 (C-13a), bem como a correlação a J^3 do sinal em δ 6,61 (H-9) com o sinal do carbono em 58,66 e 6,65 (H-12) com o sinal do carbono em δ 35,90 indicou a correta posição dos hidrogênios aromáticos sem ambigüidades. (FIGURA 49, TABELA 51).

Pelo mapa de contorno gHMBC pôde-se também definir as corretas posições dos grupos hidroxilas e metoxílicos. Assim observou que o sinal em δ 6,76 (H-1) mostrou uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 147,00 portador do grupo metoxílico em δ 3,85 (3-OCH₃),

atribuindo assim um dos grupos metoxílico em C-3, e o sinal em δ 6,63 (H-4) apresentou uma forte correlação com o sinal em δ 145,47, atribuindo um dos grupos hidroxila em C-2. Já o sinal em δ 6,65 (H-12) mostrou uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 146,92 portador do grupo metoxílico em 3,84 (10-OCH₃) confirmando o outro grupo metoxílico em C-10, e o sinal em δ 6,61 (H-9) uma forte correlação a J^3 com o sinal em δ 145,16 estabelecendo o outro grupo hidroxila em C-11 (FIGURA 49, TABELA 51). As corretas atribuições foram ainda confirmadas pela análise de NOESY (TABELA 51).

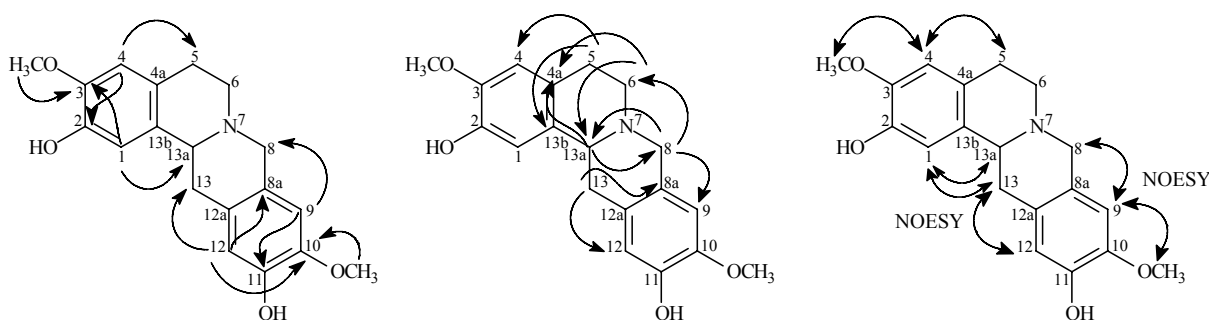


FIGURA 49. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOESY de **G36**.

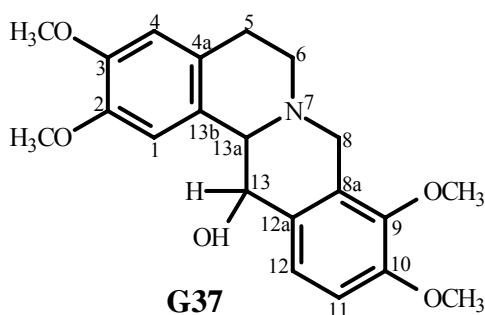
Na TABELA 51 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G36** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo o alcalóide tetraidroprotoberberínico conhecido como *coreximina*. Os dados publicados para esse compostos são incompletos e alguns apresentam algumas ambigüidades, sendo corrigidos nesse trabalho. Os dados de ^{13}C são relatados pela primeira vez.

TABELA 51. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G36**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gCOSY ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOESY ^{a,d}
1	112,47 d	6,76 (1H, s)		2 ^e , 3, 4a e 13a	H-13a e H-13 _{pseudoeq}
2	145,47 s				
3	147,00 s				
4	111,87 d	6,63 (1H, s)		2, 3 ^e , 5 e 13b	3-OCH ₃ , H-5 _{pseudoax} e H-5 _{pseudoeq}
4a	125,62 s				
5 _{pseudoax}		3,08 (1H, m)	H-5 _{pseudoeq} , H-6 _{pseudoax} e	4a, 6 e 13b	
	28,77 t	2,67 (1H, m)	H-6 _{pseudoeq}		
5 _{pseudoeq}			H-5 _{pseudoax} , H-6 _{pseudoax} e	4, 4a e 13b	
			H-6 _{pseudoeq}		
6 _{pseudoax}		2,63 (1H, m)	H-6 _{pseudoeq} , H-5 _{pseudoax} e	4a, 5 ^e e 13a	
	52,13 t		H-5 _{pseudoeq}		
6 _{pseudoeq}		3,14 (1H, m)	H-6 _{pseudoax} , H-5 _{pseudoax} e	4a, 5 e 13a	
			H-5 _{pseudoeq}		
8 _{pseudoax}		3,66 (1H, d, 16,1)	H-8 _{pseudoeq}	6, 8a, 9 ^e , 12a e 13a	
	58,66 t				
8 _{pseudoeq}		3,92 (1H, d, 16,0)	H-8 _{pseudoax}	6, 8a ^e , 9, 12a, 13a	

8a	125,13 s			e 13b ^e	
9	109,56 d	6,61 (1H, s)		8, 10 ^e , 11 e 12a	H-8 _{pseudoax} , H-8 _{pseudoeq} e 10-OCH ₃
10	146,92 s				
11	145,16 s				
12	115,47 d	6,65 (1H, s)		8a, 10, 11 ^e e 13	H-13 _{pseudoax} e H-13 _{pseudoeq}
12a	126,89 s				
13 _{pseudoax}		2,75 (1H, dd, 16,2 e 11,5)	H-13 _{pseudoeq} e H-13a	8a, 12 ^e , 12a, 13a e 13b	
13 _{pseudoeq}		3,24 (1H, dd, 16,2 e 3,9)	H-13 _{pseudoax} e H-13a	8a, 12 e 12a e 13a	
13a	60,26 d	3,58 (1H, dd, 11,5 e 3,9)	H-13 _{pseudoax} e H-13 _{pseudoeq}	4a, 8, 13 e 13b	
13b	130,11 s				
2-OH					
3-OCH ₃	56,19 q	3,85 (3H, s)		3	4
10-OCH ₃	56,10 q	3,84 (3H, s)		10	9
11-OH					

^a Experimento realizado a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação espacial ¹H-¹H. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G37** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas quando recristalizado em CHCl₃:MeOH 2:1, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₁H₂₅NO₅ (calculado 371,1732) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C. Pela análise do espectro de absorção na região do IV observou-se uma banda larga em 3422 cm⁻¹ típica de grupo hidroxila fenólica (ANEXO I - E199).

Pelas análises dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E200 e E201) e ¹³C (ANEXO I - E202) (400 e 100 MHz, CDCl₃) de **G37**, observou-se similaridades quando comparado com os espectros de RMN de **G35**, diferenciando deste pela ausência do grupo hidroxila substituído em C-3 e a provável presença de um grupo metoxílico substituído nesse mesmo carbono (C-3) devido ao sinal em δ 3,87 (3H, s) correlacionado ao sinal do carbono em δ 55,83 no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E203), bem como um sinal em δ 4,82 (1H, sl) correlacionado ao sinal do carbono em δ 69,91 característico de hidrogênio e carbono carbinólico substituído em C-13 (TABELA 52).

O grupo metoxílico substituído em C-3 foi confirmado analisando do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E204) pela correlação a J^3 do sinal em δ 6,78 (H-1) com o sinal do carbono em δ 147,70 portador do grupo metoxílico em δ 3,87 (3-OCH₃), bem como o grupo hidroxila substituído em C-13 pela correlação dos sinais em δ 7,18 (H-12) a J^3 e em δ 3,70 (H-13a) a J^2 com o sinal do carbono carbinólico em 69,91 (C-13) (FIGURA 50, TABELA 52).

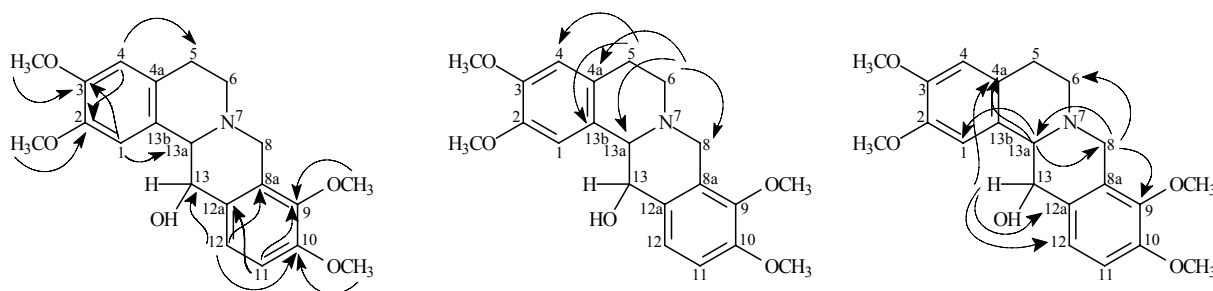


FIGURA 50. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G37**.

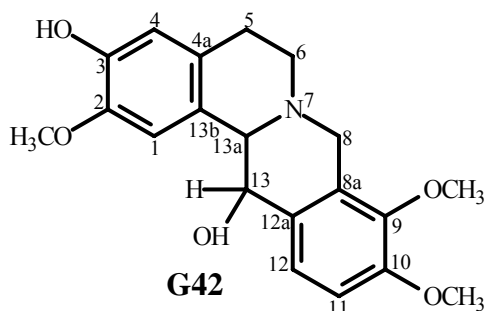
Na TABELA 52 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G37** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo o alcalóide tetraidroprotoberberínico conhecido como *13-hidroxi-2,3,9,10-tetrametoxiprotoberberino*. Há apenas um registro para esse alcalóide de acordo com *Scienfinder Scholar*” como produto de síntese de alcalóides protoberberínicos (GOVINDACHARI *et al.*, 1957). Este é o seu primeiro registro como produto natural.

TABELA 52. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G37**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}
1	108,35 d	6,78 (1H, s)	2, 3, 4a, 4 ^d , 13a e 13b
2	147,85 s		
3	147,69 s		
4	111,45 d	6,63 (1H, s)	1 ^d , 2, 3 ^d , 4a ^d , 5 e 13b
4a	128,39 s		
5 _{Pseudoax}		3,13 (1H, m)	4a e 6
5 _{Pseudoeq}	29,10 t	2,64 (1H, m)	4, 4a e 13b
6 _{Pseudoax}		2,73 (1H, m)	4a e 13a
6 _{Pseudoeq}	51,02 t	3,20 (1H, m)	4a, 5, 8 e 13a ^d
8 _{Pseudoax}		3,56 (1H, d, 16,0)	6, 8a, 9, 10 ^d , 12a e 13a
8 _{Pseudoeq}	53,97 t	4,22 (1H, d, 16,0)	6, 8a, 9, 10 ^d , 12a e 13a
8a	128,70 s		
9	144,69 s		
10	151,76 s		
11	111,18 d	6,88 (1H, d, 8,4)	8a ^d , 9, 10 ^d e 12a
12	125,38 d	7,18 (1H, d, 8,4)	8a, 9 ^d , 10, 13 e 11
12a	131,03 s		
13	69,91 d	4,82 (1H, sl)	8a ^d , 12 ^d e 12a ^d
13a	64,33 d	3,70 (1H, sl)	1, 4a, 8, 13 ^d e 13b
13b	126,04 s		
2-OCH ₃	56,01 q	3,90 (3H, s)	2
3-OCH ₃	55,83 q	3,87 (3H, s)	3

9-OCH ₃	60,15 q	3,86 (3H, s)	9
10-OCH ₃	55,83 q	3,88 (3H, s)	10

^a Experimento realizado a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G42** apresentou-se como um sólido amorfo marrom escuro, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular C₂₀H₂₃NO₅ (calculado 357,1576) deduzida com base nos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E205 e 206) e ¹³C (ANEXO I - E207).

Pelas análises dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E205 e 206) e ¹³C (ANEXO I - E207) (400 e 100 MHz, CDCl₃) de **G42** juntamente com os mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E208) e gHMBC (ANEXO I - E209), observou-se similaridades quando comparado com os espectros de RMN de **G37**, diferenciando de **G37** pela ausência do grupo metoxílico substituído em C-3 e a provável presença de um grupo hidroxila substituído nesse mesmo carbono (C-3), devido o sinal em δ 144,24 típico de carbono aromático oxigenado observado no espectro de RMN de ¹³C o qual não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos no mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E209).

O grupo hidroxila substituído em C-3 foi evidenciado pela análise do mapa de contorno gHMBC devido à correlação a J³ do sinal em δ 6,75 (H-1) com o sinal do carbono em δ 144,24, bem como à correlação a J³ do sinal em δ 6,69 (H-4) com o sinal do carbono em δ 145,55 portador do grupo metoxílico em δ 3,90. A presença do grupo hidroxila em C-3 foi confirmada ainda pela análise de NOE 1D em que a irradiação do sinal em δ 6,69 (H-4) não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos, assim como a presença do grupo hidroxila em C-13 em que a irradiação do sinal em δ 4,80 (H-13) apresentou correlação com os sinais em δ 3,68 (H-13a), δ 6,75 (H-1) e δ 7,17 (H-12) (FIGURA 51, TABELA 53).

Na TABELA 53 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G42** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, elucidando-o como sendo um alcalóide inédito do tipo tetraidroprotoberberínico denominado como *3,13-diidroxi-2,9,10-trimetoxiprotoberberino*.

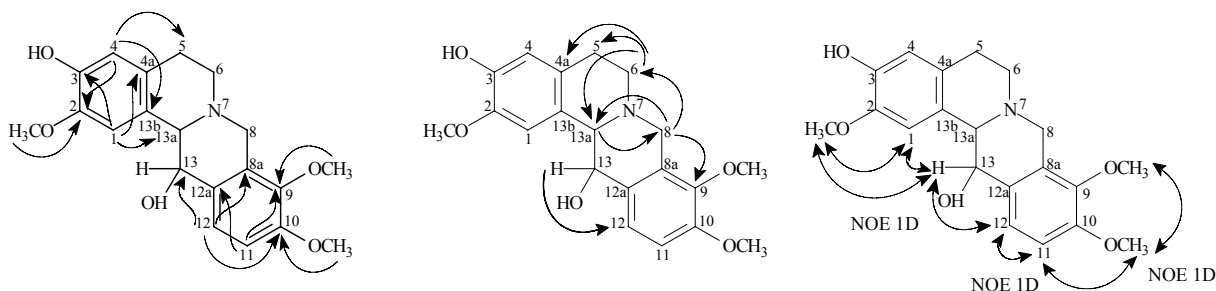
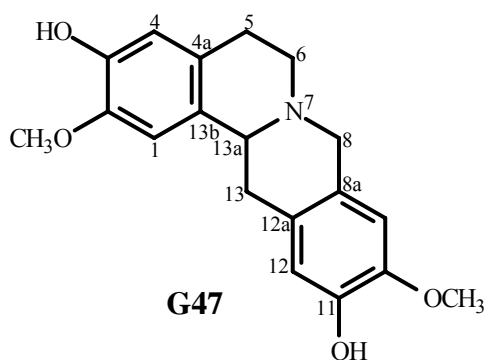


FIGURA 51. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOE 1D de **G42**.

TABELA 53. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G42**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE 1D ^d
1	107,64 d	6,75 (1H, s)	2 ^e , 3, 4a, 13a e 13b ^e	2-OCH ₃ e H-13
2	145,55 s			
3	144,24 s			
4	114,36 d	6,69 (1H, s)	2, 3 ^e , 5 e 13b	Nenhuma correlação
4a	129,16 s			
5 _{pseudoax}		3,09 (1H, dd, 15,6, 11,8 e 4,7)		
5 _{pseudoeq}	28,92 t	2,61 (1H, dl, 15,7)		
6 _{pseudoax}		2,71 (1H, ddd, 11,8, 10,7 e 2,8)	13a	
6 _{pseudoeq}	51,04 t	3,18 (1H, ddd, 10,6, 4,7 e 1,2)	4a, 5 e 13a	
8 _{pseudoax}		3,54 (1H, d, 16,0)	6, 8a, 9, 10 ^e , 12a e 13a ^e	
8 _{pseudoeq}	54,01 t	4,21 (1H, d, 16,0)	8a, 9, 12a e 13a	
8a	128,73 s			
9	144,73 s			
10	151,78 s			
11	111,22 d	6,88 (1H, d, 8,3)	9, 10 ^e e 12a	10-OCH ₃ e H-12
12	125,36 d	7,17 (1H, d, 8,3)	8a, 9 ^e , 10, 11 ^e e 13	
12a	131,05 s			
13	70,03 d	4,80 (1H, sl)	12	H-1, H-12 e H-13a
13a	64,43 d	3,68 (1H, sl)	8 e 13b	H-1, H-8 _{pseudoax} e H-13
13b	125,52 s			
2-OCH ₃	56,02 q	3,90 (3H, s)	2	H-1
3-OH				
9-OCH ₃	60,16 q	3,86 (3H, s)	9	10-OCH ₃
10-OCH ₃	55,85 q	3,88 (3H, s)	10	H-11 e 9-OCH ₃

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Correlação espacial ^1H - ^1H e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G47** apresentou-se como um sólido amarelo pálido em forma de agulhas quando recristalizado em $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 2:1, p.f. = 238-241°C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ deduzida do seu espectro de massas de alta resolução $[\text{M}]^+$ 327,1573 (calculado 327,1470) (ANEXO I - E210) e confirmada com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Pelas análises dos espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E211 e E212) e ^{13}C (ANEXO I - E213) (400 e 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G47** juntamente com os mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E214) e gHMBC (ANEXO I - E215), observou-se várias similaridades praticamente idênticos quando comparado com os espectros de RMN de **G36**, diferenciando deste em pequenos intervalos de deslocamentos químicos, tratando-se provavelmente de compostos regioisoméricos, já que a fórmula molecular é a mesma para ambos os compostos, sendo fundamental a análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC.

Pela análise dos mapas de contorno gHSQC (ANEXO I - E214) e gHMBC (ANEXO I - E215) foi possível observar que a diferença de **G47** em relação a **G36** estava no anel A na localização dos grupos hidroxilas e metoxílicos, pois o sinal em δ 6,63 típico de H-4 evidenciou uma forte correlação a J^3 com o sinal do carbono oxigenado em δ 146,06 (C-2) portador do grupo metoxílico em δ 3,89 (2- OCH_3) e o sinal em 6,72 típico de H-1 mostrou uma forte correlação com o sinal do carbono oxigenado em 144,62 (C-3), o qual não apresentou nenhuma correlação com os grupos metoxílicos, sugerindo um grupo hidroxila nesta posição, definindo assim as corretas substituições dos grupos metoxílico e hidroxila em C-2 e C-3, respectivamente. As corretas atribuições foram ainda confirmadas pela análise de NOE 1D (FIGURA 52, TABELA 54).

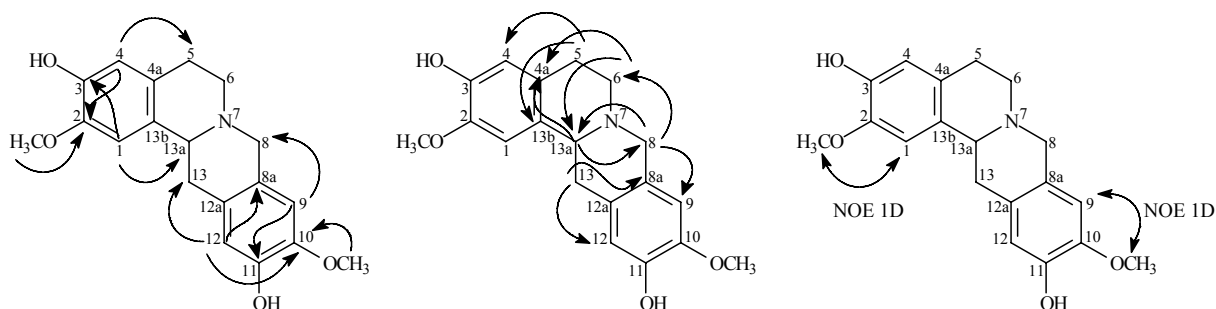


FIGURA 52. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC e NOE 1D de **G47**.

Na TABELA 54 é apresentado os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G47** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e experimentos de NOE 1D elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo tetraidroprotoberberínico conhecido como *isocoreximina* (TSAI *et al.*, 1998).

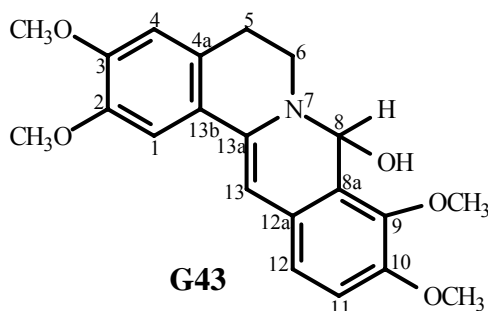
TABELA 54. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G47**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J in Hz) ^a	COSY ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,c}	NOE 1D ^d
1	108,43 d	6,72 (1H, s)		2 ^e , 3, 4 ^e , 4a, 13a e 13b	2-OCH ₃
2	146,06 s				
3	144,62 s				
4	114,84 d	6,63 (1H, s)		1 ^e , 2, 3 ^e , 5, 13a ^e e 13b	
4a	126,85 s				
5 _{Pseudoax}	28,26 t	3,05 (1H, m)	H-5 _{Pseudoeq} , H-6 _{Pseudoax} e H-6 _{Pseudoeq}	4, 4a, 6 e 13b	
5 _{Pseudoeq}		2,66 (1H, m)	H-5 _{Pseudoax} , H-6 _{Pseudoax} e H-6 _{Pseudoeq}	4, 4a, 6 ^e , 13a e 13b,	
6 _{Pseudoax}	51,47 t	2,62 (1H, m)	H-6 _{Pseudoeq} , H-5 _{Pseudoax} e H-5 _{Pseudoeq}	5, 8 e 13a	
6 _{Pseudoeq}		3,12 (1H, m)	H-6 _{Pseudoax} , H-5 _{Pseudoax} e H-5 _{Pseudoeq}	4a, 5, 8 e 13a	
8 _{Pseudoax}		3,67 (1H, d, 14,4)	H-8 _{Pseudoeq}	6, 8a, 9, 12a e 13a	
8 _{Pseudoeq}	58,24 t	3,91 (1H, sobreposto)	H-8 _{Pseudoax}	8a, 9, 12a, 13a e 13b ^e	
8a	124,95 s				
9	108,87 d	6,57 (1H, s)		8, 8a ^e , 10 ^e , 11, 12 ^e e 12a	10-OCH ₃
10	145,98 s				
11	144,57 s				
12	114,79 d	6,69 (1H, s)		9 ^e 8a, 10, 11 ^e e 13	
12a	126,50 s				
13 _{Pseudoax}		2,79 (1H, dd, 16,0 e 11,4)	H-13 _{Pseudoeq} e H-13a	8a, 12a, 13a e 13b	
13 _{Pseudoeq}	35,72 t	3,24 (1H, dd, 16,0 e 3,9)	H-13 _{Pseudoax} e H-13a	8a, 12, 12a e 13a	
13a	59,82 d	3,61 (1H, dd, 11,4 e 3,8)		1, 4a, 8, 13 ^e e 13b	
13b	128,62 s				
2-OCH ₃	56,18 q	3,89 (3H, s)		2	H-1
3-OH					
10-OCH ₃	56,02 q	3,85 (3H, s)		10	H-9
11-OH					

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno.

^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação espacial ^1H - ^1H . (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.5.2. DETERMINAÇÃO DE G43 E G44



O composto **G43** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas quando recristalizado em $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 2:1, p.f. = 187-189 °C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (calculado 369,1576) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E216) observou-se uma banda larga em 3439 cm^{-1} típica de grupo hidroxila fenólica.

A análise preliminar dos espectros de RMN de ^1H (ANEXO I - E217 e E218) e ^{13}C (ANEXO I - E219) (400 e 100 MHz, CDCl_3) evidenciou características de um alcalóide do tipo tetraidroprotoberberínico quando comparado com os dados de RMN das estruturas anteriores elucidadas.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H juntamente com a análise do mapa de contorno COSY (ANEXO I - E220) e gHSQC (ANEXO I - E221) verificou-se a presença de sinais de hidrogênios diastereotópicos para dois grupos metilênicos em δ 3,42 (1H, ddd, $J = 15,1, 9,8$ e $4,8$ Hz) / δ 2,74 (1H, dt, $J = 15,5$ e $4,5$ Hz), e δ 3,88 (1H, sobreposto) / δ 3,74 (1H, ddd, $J = 13,6, 9,8$ e $3,7$ Hz), típicos dos hidrogênios, $\text{H-5}_{\text{Pseudoax}}/\text{H-5}_{\text{Pseudoeq}}$ e $\text{H-6}_{\text{Pseudoeq}}/\text{H-6}_{\text{Pseudoax}}$, respectivamente bem como dois sinais de hidrogênios metínicos, sendo um em δ 5,64 (1H, sl) típico de hidrogênio carbinólico e outro em δ 6,15 (1H, sl) característico de hidrogênio sobre ligação dupla (WAFO *et al.*, 1999). Estes hidrogênios metilênicos juntamente com os sinais dos hidrogênios metínicos em δ 5,64 e δ 6,15 sugerem um sistema diidroprotoberberino contendo quatro grupos metoxílicos em δ 3,89, δ 3,90, δ 3,941 e δ 3,948 todos singletos com integração para três hidrogênios respectivamente (TABELA 55). Pelo espectro de RMN ^1H observou-se ainda quatro sinais típicos de hidrogênios aromáticos, sendo dois sinais em δ 6,63 (s, 1H) e δ 7,18 (s, 1H) atribuídos a dois hidrogênios aromáticos isolados situados em posição *para* característicos de anel benzênico 2,3,5-6-tetrassubstituído, e dois em δ 6,98 (1H) e δ

6,89 (1H) ambos dubletos com constante de acoplamento *orto* em torno de 8,4 Hz sugerindo outro anel benzênico tetrassubstituído, similar ao composto **G37**. Estes hidrogênios aromáticos podem estar localizados no anel A ou anel D do esqueleto tetraidroprotoberberínico, sendo fundamental a análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC para estabelecer a correta ordem padrão de substituição dos anéis A e D (TABELA 55).

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C (ANEXO I - E219), gHSQC (ANEXO I - E221), e gHMBC (ANEXO I - E222) observou-se a presença de 21 carbonos, sendo 12 aromáticos entre δ 149,61 e δ 106,97, quatro metoxílicos em δ 60,97, δ 56,33, δ 56,06 e δ 55,90, um quaternário em δ 137,53 característico de carbono sp^2 , dois metínicos, sendo um em δ 73,60 típico de carbono carbinólico e outro em δ 96,95 típico de carbono sp^2 , e dois metilênicos em δ 29,96 (C-5) e δ 51,71 (C-6) confirmando a presença do esqueleto diidroprotoberberino, consistente com a estrutura de **G43** (TABELA 55).

As corretas posições dos hidrogênios aromáticos foram determinadas pelas análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 55) com os carbonos aromáticos vicinais e alifáticos. Os sinais dos hidrogênios em δ 7,18 ligado ao carbono δ 106,97 e δ 6,63 ligado ao carbono δ 110,91 foram atribuídos a H-1 e H-4, respectivamente definindo assim o sistema *para* no anel A, e os sinais em δ 6,98 e δ 6,89 foram atribuídos a H-11 e H-12, respectivamente definindo assim o sistema *orto* no anel D. A existência da correlação do sinal em δ 6,63 (H-4) com o sinal a J^3 do carbono em δ 29,96 (C-5), e δ 7,18 (H-1) com o sinal a J^3 do carbono em δ 137,53 (C-13a) indicou a posição de ambos os hidrogênios aromáticos sem ambigüidades. Conseqüentemente o sistema *orto* foi definido no anel D pela correlação do sinal em δ 6,89 (H-12) ligado ao carbono δ 118,48 a J^3 com o carbono em δ 114,82 (C-8), e do sinal em δ 6,98 (H-11) ligado ao carbono δ 114,57 com o sinal do carbono em δ 129,45 (C-12a), similar ao composto **G37**. Pelos dados de gHMBC pôde-se verificar que o grupo hidroxila estava localizado em C-8 devido à correlação a J^3 do sinal em δ 5,64 com os sinais dos carbonos em δ 146,41 (9-OCH₃) e δ 51,71 (C-6). Já o sinal em δ 6,15 foi atribuído a H-13 devido à correlação deste sinal a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 123,50 (C-13b), δ 118,48 (H-12) e δ 114,82 (C-8a) (FIGURA 54, TABELA 55).

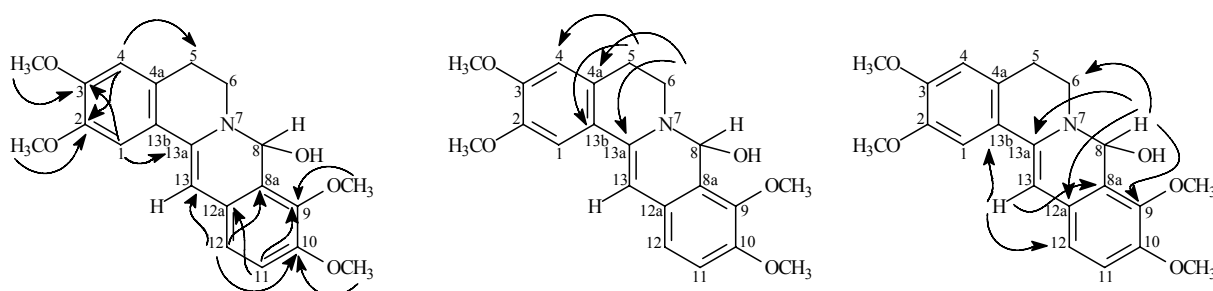


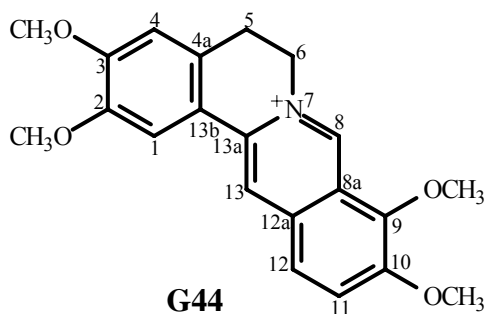
FIGURA 53. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G43**.

Na TABELA 55 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G43** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno COSY, gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados descritos na literatura, elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo tetraidroprotoberberínico conhecido como *7,8-diidro-8-hidroxipalmatina*, encontrado apenas na espécie *Enantia chlorantha* (WAF0 *et al.*, 1999). Este é o segundo registro do seu isolamento na literatura.

TABELA 55. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G43**^a

Posição	^{13}C (δ) ^{a,b}	^{13}C (δ) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	COSY ^a	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^{a,d}
1	106,97 d	105,60 d	7,18 (1H, s)	7,20 (1H, s)		2 ^e , 3, 4 ^e , 4a, 13a ^e e 13b ^e
2	147,77 s	147,90				
3	149,15 s	149,25				
4	110,91 d	111,90	6,63 (1H, s)	6,65 (1H, s)		1 ^e , 2, 3 ^e , 4a ^e 5, 13a ^e e 13b
4a	127,30 s	127,40				
5 ^{Pseudoax}	29,96 t	30,00	3,42 (1H, ddd, 15,1, 9,8 e 4,8)	3,42 (1H, ddd, 15,5, 9,9 e 4,4)	5 ^{Pseudoeq} , 6 ^{Pseudoax} e 6 ^{Pseudoeq}	4, 4a, 6 e 13b
5 ^{Pseudoeq}			2,74 (1H, dt, 15,5 e 4,5)	2,76 (1H, dt, 15,5 e 4,4)	5 ^{Pseudoax} , 6 ^{Pseudoax} e 6 ^{Pseudoeq}	4, 4a, 6 e 13b
6 ^{Pseudoax}	51,71 t	51,80	3,74 (1H, ddd, 13,6, 9,8 e 3,7)	3,75 (1H, ddd, 13,7, 9,9 e 3,8)	5 ^{Pseudoax} , 5 ^{Pseudoeq} e 6 ^{Pseudoeq}	4a, 5 e 13a
6 ^{Pseudoeq}			3,88 (1H, sobreposto)	3,88 (1H, sobreposto)	5 ^{Pseudoax} , 5 ^{Pseudoeq} e 6 ^{Pseudoax}	6, 8a ^e , 9, 12a, 13 ^e , 13a, e 13b ^e
8	73,56 d	73,60	5,64 (1H, s)	5,65 (1H, s)		
8a	114,82 s	114,90				
9	146,41 s	146,59				
10	149,61 s	149,77				
11	114,57 d	114,60	6,98 (1H, d, 8,4)	7,00 (1H, d, 8,4)	12	9, 10 ^e 12 ^e e 12a
12	118,48 d	118,60	6,89 (1H, d, 8,4)	6,90 (1H, d, 8,4)	11	8a, 9 ^e , 10, 11 ^e , 12a ^e e 13
12a	129,45 s	129,50				
13	96,95 d	97,10	6,15 (1H, s)	6,20 (1H, s)		8a, 12, 13b e 13a
13a	137,53 s	137,60				
13b	123,50	123,50				
2-OCH ₃	56,06 q	56,10	3,941 (3H, s)	3,96 (3H, s)		2
3-OCH ₃	55,90 q	56,10	3,90 (3H, s)	3,90 (3H, s)		3
9-OCH ₃	60,97 q	61,10	3,948 (3H, s)	3,95 (3H, s)		9
10-OCH ₃	56,33 q	56,40	3,89 (3H, s)	3,89 (3H, s)		10

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c WAF0 *et al.* (1999) (^1H ; 400, ^{13}C ; 100 MHz, CDCl_3). ^d Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.



O composto **G44** apresentou-se como um sólido amarelado em forma de agulhas quando recrystalizado em $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 2:1, p.f. = 205-207°C, teste positivo para alcalóides frente ao reagente de Dragendorff e fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4$ (calculado 352,1548) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Pelas análises dos espectros de absorção na região do IV (ANEXO I - E223) e RMN de ^1H (ANEXO I - E224 e E225) e ^{13}C (ANEXO I - E226 e E227) (400 e 100 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 85:15 e 400 e 100 MHz, CD_3OD) de **G44** observou-se algumas similaridades quando comparado com os espectros de RMN de **G43**.

Pela análise do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 85:15) observou-se dois sinais em δ 9,79 (1H, s) e δ 8,69 (1H, s) típicos de esqueleto berberino os quais foram atribuídos a H-8 e H-13, dois sinais de grupos metilênicos acoplados, um em δ 3,32 (2H, t, $J = 6,3$ Hz) e outro relativamente deslocado (desblindado) em δ 4,98 (2H, t, $J = 6,3$ Hz) causado pela presença de uma amina quaternária, característicos de H-5 e H-6, respectivamente do esqueleto protoberberínico (CHIA *et al.*, 1998; GRICOVÁ *et al.*, 2007). Verificou-se também quatro sinais típicos de grupos metoxílicos em δ 4,00, δ 4,06, δ 4,12 e δ 4,25 todos com integração para três hidrogênios, dois singletos em δ 7,56 e δ 6,96 atribuídos a dois hidrogênios aromáticos isolados situados em posição *para* característicos de anel benzênico 2,3,5-6-tetrassubstituído similar ao compostos **G43**, e um sinal de hidrogênio aromático sobreposto em δ 8,02 com integração para dois hidrogênios (TABELA 56). Pela análise deste composto em CD_3OD (400 MHz) (ANEXO I - E225) observou-se que o sinal em δ 8,02 (400 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ 85:15) tratava-se dois sinais de hidrogênios aromáticos em δ 8,09 e δ 8,01, ambos dubletos com constante de acoplamento *orto* ($J = 9,1$ Hz) (TABELA 56).

Assim como observado para **G43**, estes hidrogênios aromáticos de **G44** podem estar localizados no anel A ou anel D do esqueleto tetraidroprotoberberínico, sendo fundamental a análise dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC para estabelecer a correta ordem padrão de substituição dos anéis A e D (TABELA 56).

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C (ANEXO I - E226 e E227), gHSQC (ANEXO I - E228) e gHMBC (ANEXO I - E229) observou-se a presença de 21 carbonos, sendo 15 aromáticos entre δ 152,86 e δ 108,77, quatro metoxílicos em δ 62,35, δ 57,32, δ 56,67 e δ 56,50, e dois metilênicos em δ 27,35 e δ 56,79 (C-6) típicos de C-5 e C-6, consistente com a estrutura de **G44** (TABELA 56). A presença de dois sinais de carbonos aromáticos hidrogenados em 145,15 (H-8) e 120,66 (H-13) confirma a presença do esqueleto berberino (GRICOVÁ *et al.*, 2007).

As corretas posições dos hidrogênios aromáticos foram determinadas pelas análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC (TABELA 56) com os carbonos aromáticos vicinais e alifáticos. Os sinais dos hidrogênios em δ 7,56 ligado ao carbono δ 108,77 e δ 6,96 ligado ao carbono δ 111,37 foram atribuídos a H-1 e H-4, respectivamente definindo assim o sistema *para* no anel A, e o sinal em δ 8,02 (2H) foi atribuído a H-11/H-12, definindo assim o sistema *orto* sobreposto no anel D. A existência da correlação do sinal em δ 6,96 (H-4) com o sinal a J^3 do carbono em δ 27,35 (C-5), e δ 7,56 (H-1) com o sinal a J^3 do carbono em δ 138,76 (C-13a) indicou a posição de ambos os hidrogênios aromáticos sem ambigüidades. Conseqüentemente o sistema *orto* sobreposto foi definido no anel D pela correlação do sinal em δ 8,02 ligado aos carbonos 127,39 (C-11) e 123,60 (C-12) a J^3 com os sinais dos carbonos em δ 122,39 (C-8), δ 134,24 (C-12a) e δ 120,66 (C-13) (FIGURA 54, TABELA 56).

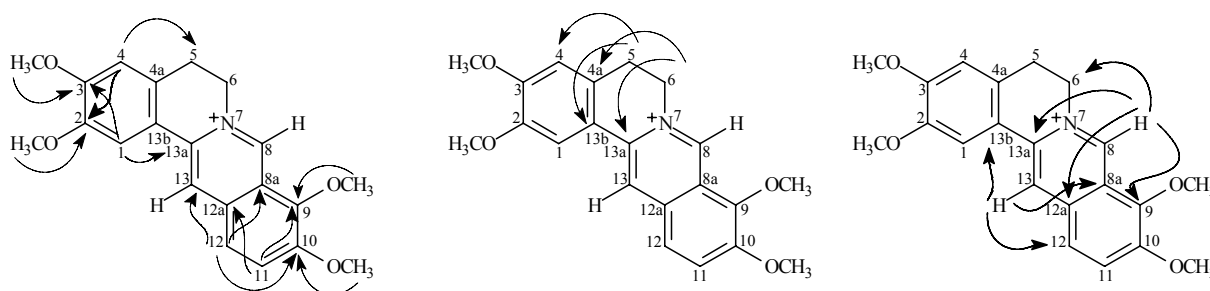


FIGURA 54. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G44**.

Na TABELA 56 são apresentados os corretos valores de ^1H e ^{13}C de **G44** atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC, e comparações com os dados descritos na literatura, elucidando-o como sendo o alcalóide do tipo tetraidroprotoberberínico quaternário conhecido como *palmatina*, também encontrado na espécie *Enantia chlorantha* (WAFO *et al.*, 1999).

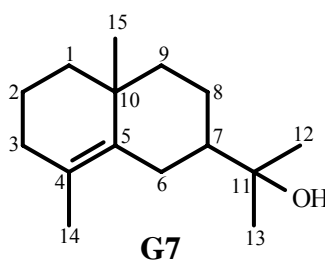
TABELA 56. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G44**^a

Posição	$\delta_c^{a,b}$	$\delta_c^{c,d}$	$^1\text{H } \delta$ (mult., J em Hz) ^a	$^1\text{H } \delta$ (mult., J em Hz) ^c	gHMBC ($^1\text{H}-^{13}\text{C}$) ^e
1	108,77 d	109,96 d	7,56 (1H, s)	7,64 (1H, s)	2', 3, 4e, 4a, 13a' e 13b
2	150,01 s	150,08 s			
3	152,86 s	153,79 s			
4	111,37 d	112,26 d	6,96 (1H, s)	7,03 (1H, s)	1', 2, 3', 4a', 5, 13a' e 13b
4a	128,64 s	130,06 s			
5	27,35 t	27,84 t	3,32 (2H, t, 6,3)	3,28 (2H, t, 6,3)	4, 4a, 6 e 13b
6	56,79 t	56,71 t	4,98 (2H, t, 6,3)	4,93 (2H, t, 6,3)	4a, 5, 8 e 13b
8	145,15 d	146,36 d	9,79 (1H, s)	9,75 (1H, s)	6, 8a, 9, 12a, 13', 13a, e 13b'
8a	122,39 s	123,26 s			
9	144,33 s	145,69 s			
10	150,87 s	151,91 s			
11	127,39 d	128,02 d	8,02 (1H, s)	8,09 (1H, d, 9,1)	9, 12 e 12a
12	123,60 d	124,54 d	8,02 (1H, s)	8,01 (1H, d, 9,1)	8a, 10, 12a e 13
12a	134,24 s	135,24 s			
13	120,66 d	121,30 d	8,69 (1H, s)	8,79 (1H, s)	8a, 12, 13a e 13b
13a	138,76 s	139,74 s			
13b	119,26 s	120,44 s			
2-OCH ₃	56,67 q	57,38 q	4,06 (3H, s)	3,98 (3H, s)	2
3-OCH ₃	56,50 q	57,09 q	4,00 (3H, s)	3,93 (3H, s)	3
9-OCH ₃	62,35 q	62,60 q	4,25 (3H, s)	4,20 (3H, s)	9
10-OCH ₃	57,32 q	57,67 q	4,12 (3H, s)	4,09 (3H, s)	10

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 . ^c Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 + gotas de CD_3OD . Para ambos experimentos o TMS foi utilizado como padrão interno. ^{b,d} Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^e Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^f Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.1.6. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS SESQUITERPENÓIDES

5.1.6.1. DETERMINAÇÃO DE G7, G8 E G9



O composto **G7** apresentou-se como um óleo incolor, teste positivo para terpenos quando revelado em solução de anisaldeído e fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ (calculado 222,1983) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e análise por GG/EM, $[\text{M}^+]$ 222.

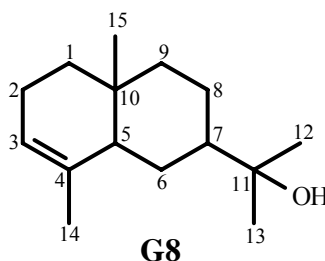
A análise por CG/EM deste composto, utilizando o índice de retenção calculado (IR = 1638) e seu espectro de massas, pode-se propor como estrutura a do composto *γ-eudesmol* (ADAMS, 2001)

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E230 e E231) verificou-se os sinais para quatro metilas sendo duas em δ 1,02 (3H, s) e δ 1,60 (3H, s) e as

outras duas superpostas em δ 1,20 (6H, s) características de sesquiterpenóides. Observou-se também um sinal em δ 2,63 (1H, ddd) com constantes de acoplamento da ordem de 13,8, 3,4 e 2,3 Hz compatível com o H-6b do composto *γ -eudesmol*. Observou-se também dois sinais centrados em δ 1,97 (1H, m) e δ 1,87 (1H, m) típicos dos hidrogênios metilênicos H-3 α e H-3 β (RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995).

Pelas análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E232) observou-se a presença de 15 carbonos, sendo quatro metilas em δ 19,22 (C-15), δ 24,59 (C-15), δ 26,74 (C-13) e δ 27,12 (C-12), seis metilenos em δ 19,11 (C-2), δ 23,25 (C-8), δ 26,34 (C-6), δ 33,15 (C-3), δ 40,20 (C-9) e δ 42,25 (C-1), um metino em δ 50,49 (C-7), e quatro carbonos quaternários em δ 34,45 (C-10), δ 72,82 (C-11) este último típico de carbono carbinólico, e δ 124,46 (C-4) e δ 134,85 (C-5) típicos de carbonos sp^2 (TABELA 57) (RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995).

Os dados fornecidos pelas análises em CG/EM, RMN de ^1H e ^{13}C , e comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G7** trata-se do álcool bicíclico contendo uma ligação dupla, conhecido como *γ -eudesmol*.



Analogamente ao composto anterior, **G8** apresentou-se como um sólido amorfo branco, teste positivo para terpenos quando revelado em solução de anisaldeído (coloração azul) e fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ (calculado 222,1983) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e análise por GG/EM, $[\text{M}^+]$ 222.

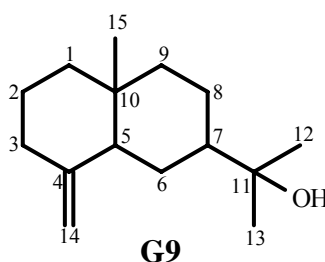
A análise por CG/EM deste composto, utilizando o índice de retenção calculado (IR = 1662) e seu espectro de massas, pode-se propor como estrutura a do composto *α -eudesmol* (ADAMS, 2001)

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E233 e E234) verificou-se os sinais para quatro metilas em δ 0,77 (3H, s), δ 1,20 (3H, s), δ 1,21 (3H, s) e δ 1,60 (3H, s), similar ao composto **G7**. Observou-se também um sinal em δ 5,32 (1H, sl) típico de hidrogênio vinílico compatível com o H-3 do composto *α -eudesmol*, bem como três sinais

centrados, sendo dois em δ 2,09 (1H, m) e δ 1,98 (1H, m) característicos dos hidrogênios metilênicos H-2 α e H-2 β e um sinal em δ 1,88 (1H, m) atribuído a H-5 (RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995).

Pelas análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E235) observou-se a presença de 15 carbonos, sendo quatro metilas em δ 15,55 (C-15), δ 21,18 (C-14), δ 26,77 (C-13) e δ 27,57 (C-12), cinco metilenos em δ 22,41 (C-8), δ 22,95 (C-2), δ 24,32 (C-6), δ 37,83 (C-1) e δ 40,14 (C-9), três metinos em δ 46,62 (C-5), δ 49,97 (C-7) e δ 120,98 (C-3), este último típico de carbono sp^2 , e três carbonos quaternários em δ 32,17 (C-10), δ 73,02 (C-11) típico de carbono ligado a oxigênio e δ 135,17 (C-4) este último típico de carbono sp^2 (TABELA 57) (RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995).

Os dados fornecidos pelas análises de CG/EM, RMN de ^1H e ^{13}C , comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G8** trata-se do álcool bicíclico contendo uma ligação dupla, conhecido como α -eudesmol. Este composto é um regioisômero do composto **G7** diferenciando entre si pela posição da dupla ligação.



Analogamente aos compostos **G7** e **G8**, o composto **G9** apresentou-se como um sólido amorfo branco, teste positivo para terpenos quando revelado em solução de anisaldeído (coloração azul) e fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ (calculado 222,1983) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e análise por CG/EM, $[\text{M}^+]$ 222.

A análise por CG/EM deste composto, utilizando o índice de retenção calculado (IR = 1660) e seu espectro de massas, pode-se propor como estrutura a do composto β -eudesmol (ADAMS, 2001)

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E236 e E237) observou-se os sinais para três metilas sendo uma em δ 0,70 (3H, s) e as outras duas superpostas em δ 1,20 (6H, s). Observou-se também os sinais de hidrogênios de grupo metilênico terminal em δ 4,44 (1H, dd, $J = 3,3$ e $1,6$ Hz) e δ 4,71 (1H, dd, $J = 3,3$ e $1,6$ Hz) compatível com H-14a e H-14b do composto β -eudesmol, bem como três sinais centrados,

sendo dois em δ 2,30 (1H, m) e δ 1,99 (1H, m) característicos dos hidrogênios metilênicos H-3 α e H-3 β , e um em δ 1,77 (1H, dd, J = 12,1 e 1,2 Hz) atribuído a H-5 (RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995).

Pelas análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E238) observou-se a presença de 15 carbonos, sendo três metilas em δ 16,31 (C-15), δ 27,13 (C-13) e δ 27,17 (C-12), sete metilenos em δ 22,39 (C-8), δ 23,50 (C-2), δ 25,04 (6), δ 36,91 (C-3), δ 41,86 (C-1), δ 41,14 (C-9) e δ 105,33 (C-14) este último típico de carbono sp^2 , dois metinos δ 49,46 (C-7) e δ 49,81 (C-5), e três carbonos quaternários, sendo um carbinólico em δ 72,94 (C-11), um sp^2 em δ 151,13 (C-4) e o terceiro na junção dos anéis em δ 35,90 (C-10) (TABELA 57).

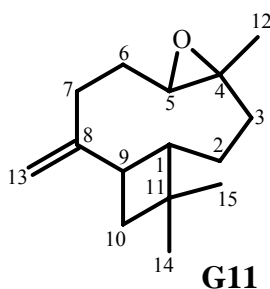
Os dados fornecidos pelas análises de CG/EM, RMN de ^1H e ^{13}C , e comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G9** trata-se do álcool bicíclico contendo uma ligação dupla, conhecido como *β -eudesmol*. Este composto é um regioisômero dos compostos **G7** e **G8** diferenciando entre si pela posição da ligação dupla.

TABELA 57. Dados de RMN de ^{13}C de **G7**, **G8** e **G9**^{a,b}

Posição	^{13}C (δ)					
	G7 ^{a,b}	<i>γ-eudesmol</i> ^c	G8 ^{a,b}	<i>α-eudesmol</i> ^c	G9 ^{a,b}	<i>β-eudesmol</i> ^c
1	42,25 t	42,32 t	37,83 t	37,82 t	41,86 t	41,85 t
2	19,11 t	19,19 t	22,95 t	22,92 t	23,50 t	23,46 t
3	33,15 t	33,22 t	120,98 d	120,91 d	36,91 t	36,87 t
4	124,46 s	124,48 s	135,17 s	135,10 s	151,13 s	150,94 s
5	134,85 s	134,92 s	46,62 d	46,60 d	49,81 d	49,78 d
6	26,34 t	26,42 t	24,32 t	24,31 t	25,04 t	24,99 t
7	50,49 d	50,56 d	49,97 d	49,92 d	49,46 d	49,42 d
8	23,25 t	23,33 t	22,41 t	22,37 t	22,39 t	22,36 t
9	40,20 t	40,28 t	40,14 t	40,14 t	41,14 t	41,14 t
10	34,45 s	34,51 s	32,17 s	32,13 s	35,90 s	35,83 s
11	72,82 s	72,88 s	73,02 s	73,00 s	72,94 s	72,72 s
12	27,12 q	27,16 q	27,57 q	27,42 q	27,17 q	27,08
13	26,78 q	26,85 q	26,77 q	26,70 q	27,13 q	27,08
14	19,22 q	19,28 q	21,18 q	21,12 q	105,33 t	105,34
15	24,59 q	24,67 q	15,55 q	15,52 q	16,31 q	16,28

^a Experimento realizado a 50 e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e DEPT 135. ^c RAHARIVELOMANANA *et al.*, 1995 (100 MHz, CDCl_3). (δ) Deslocamentos em ppm.

5.1.6.2. DETERMINAÇÃO DE G11



O composto **G11** apresentou-se como um óleo incolor, teste positivo para terpenos quando revelado em solução de anisaldeído (coloração azul) e fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$ (calculado 220,1827) deduzida com base nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C , e análise por CG/EM, $[M^+]$ 220.

A análise por CG/EM deste composto, utilizando o índice de retenção calculado (IR = 1581) e seu espectro de massas, pode-se propor como estrutura a do composto *óxido de cariofileno* (ADAMS, 2001).

Pela análise do espectro de RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) (ANEXO I - E239 e E240) verificou-se os sinais para três metilas em δ 1,20 (3H, s), δ 1,00 (3H, s) e δ 0,98 (3H, s), bem como dois sinais de hidrogênios de grupo metilênico terminal em δ 4,97 (1H, d, $J = 1,3$ Hz) e δ 4,85 (1H, d, $J = 1,3$ Hz). Verificou-se também um sinal em δ 2,88 (1H, dd, $J = 10,6$ e $4,2$ Hz) típico de hidrogênio de grupo epóxido compatível com o H-5 do composto *óxido de cariofileno* (RAGASA *et al.*, 2003) (TABELA 58).

Pelas análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (50 MHz, $CDCl_3$) (ANEXO I - E241) observou-se a presença de 15 carbonos, sendo três metilas em δ 17,00 (C-12), δ 21,62 (15) e δ 29,89 (C-14), seis metilenos em δ 27,20 (2), δ 29,77 (C-7), δ 30,20 (6), δ 39,14 (C-3), δ 39,75 (C-10) e δ 112,76 (C-13) este último característico de carbono sp^2 , três metinos em δ 48,73 (C-9), δ 50,72 (C-1) e δ 63,75 (C-5), e três carbonos quaternários em δ 34,02 (C-11), δ 59,83 (C-4) típico de carbono ligado a oxigênio e δ 151,83 (C-8) típico de carbono sp^2 (RAGASA *et al.*, 2003) (TABELA 58).

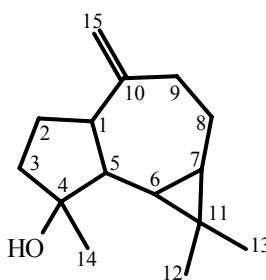
Os dados fornecidos pelas análises de CG/EM, RMN de 1H e ^{13}C , e comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G11** trata-se do epóxido bicíclico com uma ligação dupla, conhecido como *óxido de cariofileno*.

TABELA 58. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **G11**^a

Posição	G11		Óxido de cariofileno	
	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	^{13}C (δ) ^c
1	1,76 (1H, t, 9,9)	50,72 d	1,75	50,8
2	1,44 (1H, m)	27,20 t	1,45	27,2
3	1,65 (1H, m)	39,14 t	1,64	39,2
	2,10 (1H, m)		2,10	
	0,95 (1H, td, 13,0 e 5,0)		0,95	
4		59,83 s		59,8
5	2,88 (1H dd, 10,6 e 4,2)	63,75 s	2,85	63,7
6	1,35 (1H, m)	30,20 t	1,35	29,94
7	2,25 (1H, ddd, 12,3, 8,3 e 4,3)	29,77 t	2,25	29,88
	2,09 (1H, m)		2,10	
	2,34 (1H, ddd, 12,6, 8,3 e 4,3)		2,35	
8		151,83 s		151,9
9	2,62 (1H, m)	48,73 d	2,60	48,7
10	1,61 (1H, m)	39,75 t	1,60	39,8
	1,68 (1H, m)		1,69	
11		34,02		34,5
12	1,20 (3H, s)	17,00 q	1,20	17,0
13	4,85 (1H, d, 1,3)	112,76 q	4,86	112,7
	4,97 (1H, d, 1,3)		4,97	
14	1,00 (3H, s)	21,62 q	1,01	21,6
15	0,98 (3H, s)	29,89 q	0,99	30,2

^a Experimento a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e DEPT 135. ^c RAGASA *et al.*, 2003 (H; 400 MHz, C; 100 MHz, CDCl_3). (δ) Deslocamentos em ppm.

5.1.6.3. DETERMINAÇÃO DE G13



G13

O composto **G13** apresentou-se como um óleo incolor, teste positivo para terpenos quando revelado em solução de anisaldeído (coloração azul) e fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ (calculado 220,1827) deduzida com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e análise por CG/EM, $[\text{M}^+]$ 220.

A análise por CG/EM deste composto, utilizando o índice de retenção calculado (IR = 1578) e seu espectro de massas, pode-se propor como estrutura a do composto *espatulenol* (ADAMS, 2001) .

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E242 e E243) observou-se os sinais para três metilas em δ 1,04 (3H, s), δ 1,05 (3H, s) e δ 1,28 (3H, s), bem como quatro sinais de hidrogênios metínicos, sendo dois de hidrogênios de metileno terminal em δ 4,69 (1H, t, $J = 1,3$ Hz) e δ 4,66 (1H, dd, $J = 2,8$ e $1,3$ Hz), e dois em δ 0,71 (1H, ddd, $J = 11,3, 9,5$ e $6,2$ Hz) e δ 0,46 (1H, dd, $J = 11,3$ e $9,4$ Hz) típicos de hidrogênios de grupo ciclopropila compatível com o H-6 e H-7 do espatulenol, respectivamente. Verificou-se ainda um sinal em δ 2,42 (1H, ddd, $J = 13,4, 6,3$ e $0,8$ Hz) atribuído ao H-9 β do espatulenol (RAGASA *et al.*, 2003) (TABELA 59).

Pelas análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) (ANEXO I - E244) observou-se a presença de 15 carbonos, sendo três metilas em δ 16,34 (C-13), δ 26,09 (12) e δ 28,67 (C-14), quatro metilenos em δ 24,79 (C-8), δ 26,73 (C-2), δ 38,87 (C-9) e δ 41,75 (C-3), cinco metinos em δ 54,35 (C-5), δ 53,40 (C-1), δ 29,91 (C-6), δ 27,51 (C-7) e δ 106,25 (C-15) este último de típico de carbono sp^2 , e três quaternários em δ 20,27 (C-11), δ 80,97 (C-4) típico de carbono ligado a oxigênio e δ 153,44 (C-10) típico de carbono sp^2 (RAGASA *et al.*, 2003) (TABELA 59).

Os dados fornecidos pelas análises de CG/EM, RMN de ^1H e ^{13}C , e comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G13** trata-se do álcool tricíclico com uma ligação dupla, conhecido como *espatulenol*.

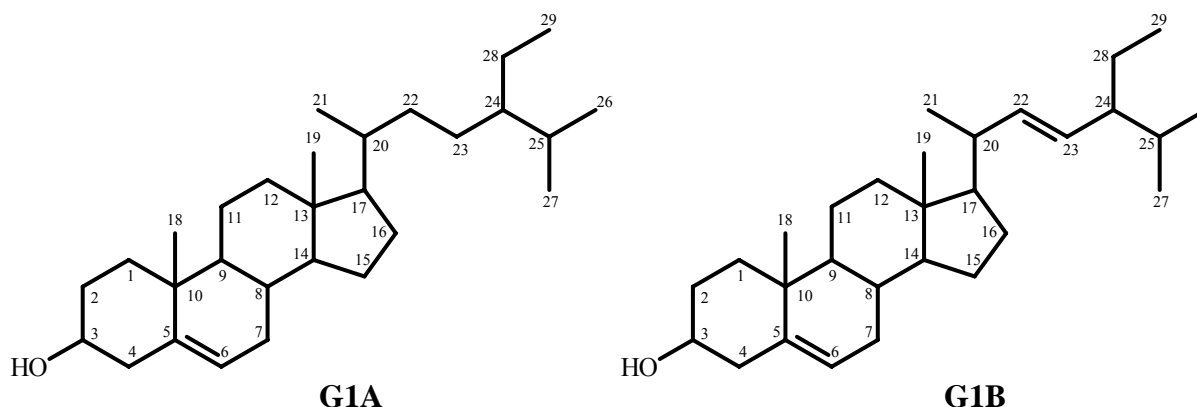
TABELA 59. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **G13**^a

Posição	G13		<i>Espatulenol</i>	
	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	^{13}C (δ) ^c
1	2,20 (1H, m)	53,40 d	2,20	53,4
2a	1,63 (1H, m)	26,73 t	1,64	26,7
2b	1,90 (1H, m)		1,91	
3a	1,54 (1H, m)	41,75 t	1,54	41,8
3b	1,76 (1H, m)		1,77	
4		80,87 s		81,0
5	1,32 (1H, m)	54,35 d	1,31	54,4
6	0,46 (1H, dd, 11,3 e 9,4)	29,91 d	0,47 (1H, dd, 11,6 e 9,6)	29,9
7	0,71 (1H, ddd, 11,3, 9,5 e 6,2)	27,51 d	0,72	27,5
8a	1,00 (1H, m)	24,79 t	1,01	24,8
8b	1,96 (1H, m)		1,96	
9a	2,04 (1H, m)	38,87 t	2,05	38,9
9b	2,42 (1H, ddd, 13,5, 7,0 e 1,0)		2,42 (1H, dd, 13,6 e 5,2)	
10		153,44 s		153,5
11		20,27 s		20,3
12	1,28 (3H, s)	26,09 q	1,28	26,1
13	1,04 (3H, s)	16,34 q	1,04	16,3
14	1,05 (3H, s)	28,67 q	1,05	28,7
15a	4,69 (1H, t, 1,3)	106,25 t	4,68	106,3
15b	4,66 (1H, dd, 2,8 e 1,3)		4,66	

^a Experimento a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ¹³C e DEPT 135. ^c RAGASA *et al.*, 2003 (H; 400 MHz, C; 100 MHz, CDCl₃). (δ) Deslocamentos em ppm.

5.1.7. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS ESTERÓIDES

5.1.7.1. DETERMINAÇÃO DE G1



O composto **G1** apresentou-se como um sólido branco em forma de agulhas quando recristalizado em Hexano:CH₂Cl₂ 2:1, p.f. = 138-139°C e teste positivo para esteróides frente a reagente de anisaldeído.

Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E245) de **G1** observou-se uma banda larga em 3424 cm⁻¹ típica de grupo hidroxila, bem como a sobreposição de várias bandas na região de 2800 – 3000 cm⁻¹ combinadas com bandas em 1465 cm⁻¹ e 1379 cm⁻¹, típicas de C-H, caracterizando o sistema alifático de **G1**, e uma banda em 1638 cm⁻¹ atribuída à deformação axial de ligação C=C. Verificou-se também uma absorção em 1059 cm⁻¹, de estiramento -C-C-O, compatível com hidroxila equatorial de esteróides e uma absorção em 963 cm⁻¹ característica de ligação C=C *trans* dissubstituída de cadeia lateral de esteróides (GOAD, 1991).

Pelas análises preliminares dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO I - E246) e ¹³C (ANEXO I - E247) observou-se características de esqueleto esteroidal, conforme indicado pela análise do espectro no IV.

Pela análise do espectro de RMN de ¹³C (ANEXO I - E247) observou-se a presença de 41 carbonos indicando provavelmente uma mistura esteroidal, contendo no mínimo dois esteróides. Comparação com os dados descritos na literatura verificou-se concordâncias entre

os deslocamentos químicos atribuídos a substância **G1**, e os respectivos sinais dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol (TABELA 60). Os sinais dos carbonos sp^2 C-22 e C-23 do estigmasterol (**G1B**) foram observados em δ 138,3 e δ 129,2, bem como os sinais dos carbonos sp^3 C-22 e C-23 do β -sitosterol (**G1A**) em δ 33,9 e δ 26,0. Observou-se também os sinais em δ 25,3 e δ 23,0 referidos como sendo dos carbonos metilênicos C-28 do estigmasterol e β -sitosterol, respectivamente, assim como os sinais em δ 140,7 e δ 121,6 característicos dos carbonos olefínicos C-5 e C-6, e o sinal em δ 71,7 típico de carbono carbinólico atribuído a C-3 de ambos os compostos (TABELA 60).

Adicionalmente, a identificação de **G1** foi ratificada pela análise do espectro de RMN de 1H (ANEXO I - E246) pela presença de um dubleto largo em δ 5,35 e um multipeto centrado em δ 3,52 característico de hidrogênio carbinólico, relativo aos hidrogênios H-6 e H-3, respectivamente da mistura esteroidal (**G1A** e **G1B**). Na região de δ 0,66 a δ 2,20 verificou-se os sinais referentes aos hidrogênios metílicos e metilênicos, além de sinais de pequena intensidade em δ 5,15 (dd, J=15,1 e 8,0 Hz) e em δ 5,01 (dd, J =15,1 e 8,0 Hz) atribuídos aos hidrogênios vinílicos H-23 e H-22, confirmando a presença do estigmasterol.

Os dados fornecidos pelas análises de IV, RMN de 1H e ^{13}C , e comparações com os dados da literatura permitiu-se concluir que o composto **G1** trata-se de uma mistura esteroidal de β -sitosterol (**G1A**) e estigmasterol (**G1B**), substâncias amplamente distribuídas no reino vegetal.

TABELA 60. Dados de RMN de ^{13}C de **G1A**^a e **G1B**^a

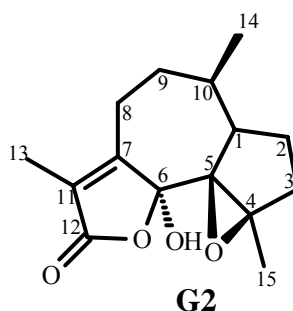
Carbonos	G1A (δ) ^a β -Sitosterol	β -Sitosterol ^b (δ)	G1B (δ) ^a Estigmasterol	Estigmasterol ^b (δ)
C-1	37,2	37,3	37,2	37,3
C-2	31,6	31,6	31,8	31,7
C-3	71,7	71,7	71,7	71,8
C-4	42,2	42,3	42,2	42,4
C-5	140,7	140,8	140,7	140,8
C-6	121,6	121,6	121,6	121,7
C-7	31,8	31,9	31,8	31,9
C-8	31,8	31,9	31,8	31,9
C-9	50,1	50,2	50,1	50,2
C-10	36,4	36,5	36,4	36,6
C-11	21,0	21,1	21,0	21,1
C-12	39,6	39,8	39,6	39,7
C-13	42,2	42,3	42,2	42,4
C-14	56,7	56,8	56,8	56,9
C-15	24,2	24,3	24,3	24,4
C-16	28,2	28,3	29,1	29,0
C-17	56,0	56,1	56,0	56,1
C-18	11,8	11,9	12,0	12,1
C-19	19,3	19,4	19,3	19,4

C-20	36,1	36,2	40,4	40,5
C-21	18,7	18,8	21,0	21,1
C-22	33,9	33,9	138,3	138,4
C-23	26,0	26,1	129,2	129,3
C-24	45,8	45,9	51,2	51,3
C-25	29,1	29,2	31,8	31,9
C-26	19,8	19,8	21,2	21,3
C-27	19,3	19,1	18,9	19,0
C-28	23,0	23,1	25,3	25,4
C-29	12,2	12,3	12,2	12,3

^a Experimento a 200 MHz para ¹H e 50 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno. ^b GOAD, 1991 (Campo não mencionado, CDCl₃). (δ) Deslocamentos em ppm.

5.1.8. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS LACTONAS SESQUITERPÊNICAS

5.1.8.1. DETERMINAÇÃO DE G2



O composto **G2** apresentou-se como um sólido branco cristalino quando recristalizado com Hexano:CH₂Cl₂ 2:1, p.f. = 135-136 °C e fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄ deduzida do seu espectro de massas (ANEXO I - E248) de alta resolução [M]⁺ 264,1393 (calculado 264,1361), e confirmada com base nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C.

Pela análise do espectro de absorção na região do IV (ANEXO I - E249) observou-se uma forte absorção em 3428 cm⁻¹ típica de grupo hidroxila, bem como uma absorção em 1749 cm⁻¹ característica de γ-lactona α,β-insaturada (TAKANO *et al.*, 1995). Pelo espectro de UV observou-se uma forte absorção em 222 nm (ANEXO I - E250) compatível com um grupo carbonila (TAKANO *et al.*, 1995).

Pela análise do espectro de RMN de ¹H (ANEXO I - E251 e E252) (400 MHz, CDCl₃) verificou-se sinais característicos para três hidrogênios metílicos em δ 1,85 (3H, s, H-13), δ 1,63 (3H, s, H-15) e δ 1,07 (3H, d, J = 7,2, H-14), dois metínicos δ 2,08 (1H, ddd, J = 10,0; 8,1 e 1,8 Hz, H-1) e δ 2,01 (m, H-10) e um metilênico δ 2,60 (2H, m, H-8). Observou-se ainda um singlete largo em δ 4,84 (sl) característico de hidrogênio de álcool. A presença de hidrogênios metilênicos diastereotópicos foi observada em δ 1,33 (m)/δ 1,52(m), δ 1,57 (m)/δ

1,94 (m), e δ 1,70 (m)/ δ 1,91 (m) conforme a análise do mapa de contorno gCOSY (ANEXO I - E253 e E254) correlacionados aos sinais dos carbonos em δ 24,97, δ 36,05 e δ 32,17, respectivamente no mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E255 e E256) (TABELA 61).

Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (ANEXO I - E257) e mapa de contorno gHSQC (ANEXO I - E255 e E256) e gHMBC (ANEXO I - E258) (TABELA 61) (100 MHz, CDCl_3) observou-se seis carbonos quaternários, quatro metilênicos, dois metínicos e três metílicos, isto é, num total de 15 carbonos. Uma análise adicional dos dados do espectro de RMN de ^{13}C revelou a presença de um sinal de um carbono carbonílico de éster em δ 172,46 (C-12) estando de acordo com os dados no IV pela absorção em 1756 cm^{-1} (C=O), e dois sinais de carbonos olefinicos em δ 161,10 e δ 124,87 atribuídos ao C-7 e C-11, sugerindo um ester α,β -insaturado. Observou-se também três sinais para carbonos oxigenados, sendo dois em δ 72,81 (C-4) e δ 72,01 (C-5) característicos de epóxido e um em δ 103,86 (C-6) característico de um carbono dioxiquaternário (hemicetal), bem como um sinal em δ 8,09 (C-13) típico de grupo metila sobre ligação dupla. Portanto, os dados preliminares sugerem que quatro oxigênios estão presentes no composto **G2**, confirmando os dados do espectro de massas. A presença de um hidrogênio a mais na molécula foi sugerida pela análise do espectro no infravermelho devido à absorção larga em 3428 cm^{-1} atribuída à deformação axial de O-H, resultando num número total de 20 hidrogênios na molécula.

Pela análise do mapa de contorno COSY ^1H - ^1H (ANEXO I - E251) verificou-se as correlações dos seguintes sinais dos hidrogênios: H-8 com H-9; H-10 com H-14; H-1 com H-2; e H-3 com H-2, sugerindo o seguinte fragmento $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$; $-\text{CH}-\text{CH}_3$; $-\text{CH}-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (TABELA 61).

Pela análise do mapa de contorno gHMBC (ANEXO I - E253 e E254) obsevou-se a correlação do sinal dos hidrogênios metílicos em δ 1,85 (H-13) com os carbonos quaternários C-6, C-7, C-11 e C-12, assim como o sinal em δ 2,60 (H-8) com C-6, C-7, C-11 e C-12, confirmando o anel γ -lactônico α,β -insaturado. O sinal dos hidrogênios metílicos H-13 ainda evidenciou correlações a longa distância (J^4 e J^5) com os carbonos C-8 e C-9, respectivamente. O sinal dos hidrogênios metílicos em δ 1,07 (H-14) mostrou correlações com C-10, C-9 e C-1, assim como o sinal em δ 1,63 (H-15) apresentou correlações com C-3, C-4 e C-5. O sinal do hidrogênio metínico em δ 2,08 (H-1) evidenciou correlações com C-2, C-3, C-9, C-10 e C-14 (FIGURA 55, TABELA 61). A estrutura proposta foi ainda confirmada pela análise de NOE 1D e difração de Raio X, bem como sua estereoquímica relativa determinada (FIGURA 56, TABELA 61).

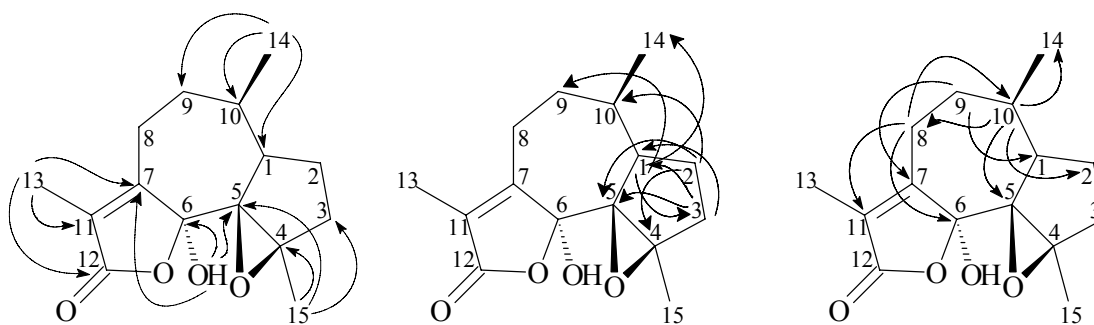


FIGURA 55. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC de **G2**.

A partir dos dados espectroscópicos (RMN 1D e 2D, NOE 1D e massas de alta resolução) sugerimos que o composto **G2** trata-se de uma lactona sesquiterpênica inédita do tipo guaianolida denominada *guatteriolida* (4,5-epoxi-8-hidroxiguaia-7-(11)-en-12,8-olida). Vale ressaltar que esta classe de compostos nunca foi relatada na família Annonaceae. Outras lactonas sesquiterpênicas foram isoladas, mas suas estruturas não estão totalmente determinadas e, portanto não estão relatadas aqui.

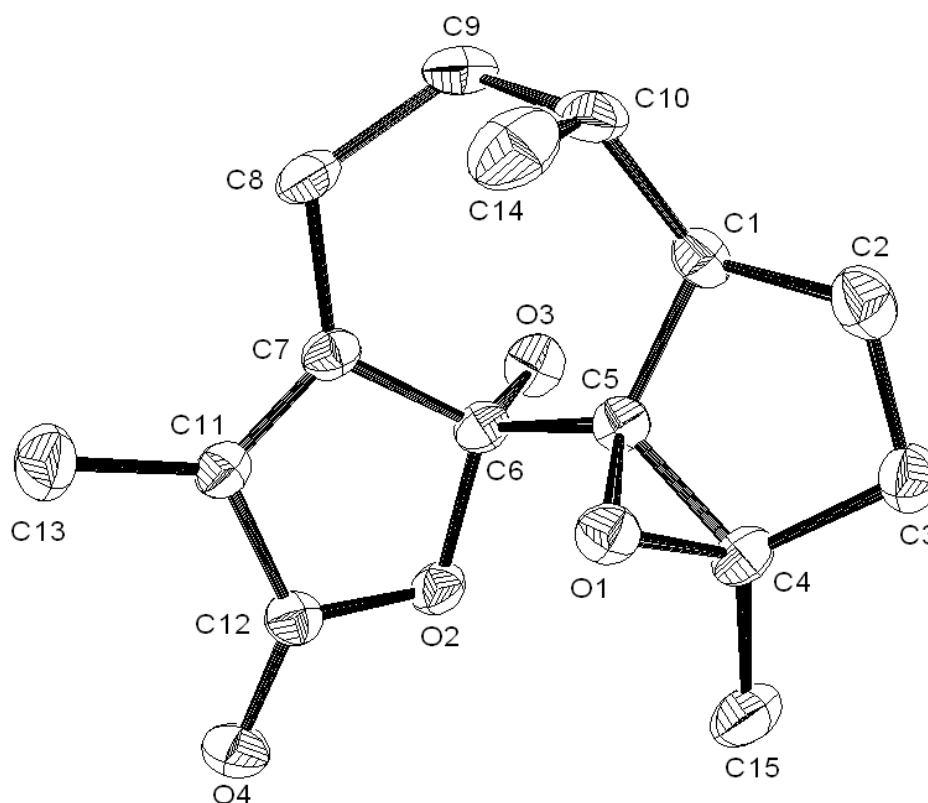


FIGURA 56. Raio X de **G2**.

TABELA 61. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para **G2**^a

Posição	δ_{C} ^{a,b}	δ_{H} ^a , mult. (J em Hz)	gCOSY ^a	gHMBC ^{a,c}	NOE ^d
1	45,98 d	2,08 (1H, ddd, 10,0, 8,1 e 1,8)	H-2 α e H-2 β	2, 3 ^e , 9 ^e , 10 e 14	2 β , 3 α , 3 β , 8, 9 α e 9 β
2 α	24,97 d	1,33 (1H, dddd, 12,7, 10,2, 10,2 e 8,6)	H-1, H-2 β , H-3 α e H-3 β	1, 3 e 10	2 β , 3 α e 14
2 β		1,52 (1H, m)	H-1, H-2 α , H-3 α e H-3 β	1, 3, 4 e 5	
3 α	32,17 d	1,70 (1H, ddd, 14,2, 10,4 e 8,6)	H-2 α , H-2 β e H-3 β	2, 4 e 15 ^e	3 β e 9 β
3 β		1,91 (1H, m)	H-2 α , H-2 β e H-3 α	1, 2, 4 e 5	
4	72,81 s				
5	72,01 s				
6	103,86 s				
7	161,10 s				
8	20,57 t	2,60 (2H, m)	H-9 α e H-9 β	6, 7, 9, 10, 11 e 12 ^e	H-9 α , H-9 β e 13
9 α	36,05 d	1,57 (1H, m)	H-8 e H-9 β	1, 7, 8, 10 e 14	
9 β		1,94 (1H, m)	H-8 e H-9 α	1, 8, 14 e 10	
10	33,56 d	2,01 (1H, m)	H-14	2, 5, 8 e 14	
11	124,87 s				
12	172,46 s				
13	8,09 q	1,85 (3H, s)		6 ^e , 7, 8 ^e , 9 ^e , 11 e 12	
14	13,39 q	1,07 (3H, d, 7,2)	H-10	1, 9 e 10	2 α , 3 β , 8, 10, e 9 β
15	17,88 q	1,63 (3H, s)		3, 4 e 5	nenhum
6-OH		4,84 (1H, s)		5, 6 e 7	nenhum

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno. ^b Multiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C e gHSQC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Medidas de NOE 1D. ^e Correlação fraca. (δ) Deslocamento químico em ppm.

5.2. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

5.2.1. TOCIXIDADE SOBRE *ARTEMIA SALINA* (TAS)

O teste de letalidade sobre *Artemia salina* foi proposto por MICHAEL *et al.* (1956) e mais tarde desenvolvido por VANHAECKE *et al.* (1981), MEYER *et al.* (1982), e SLEET & BRENDEN (1983). Baseia-se na habilidade de matar larvas de *Artemia salina* (“nauplii”) cultivadas em laboratório. O ensaio é considerado uma ferramenta útil para avaliação preliminar de toxicidade, e têm sido usado para detecção de toxinas de fungos, toxicidade de extratos vegetais, metais pesados, toxinas de cianobacterias, pesticida, micotoxinas, toxicidade em ambientes marinhos e teste de citotoxicidade de materiais dentais (MEYER *et al.*, 1982; AWAL *et al.*, 2004). A técnica é de fácil manuseio, baixo custo e utiliza pequenas quantidades de material.

O resultado positivo deste ensaio indica potencial atividade citotóxica de compostos bioativos em extratos vegetais, podendo essa atividade ser correlacionada com atividade

antitumoral e/ou inseticida de acordo com MEYER *et al.* (1982). A TABELA 62 mostra o resultado dos extratos brutos e frações provenientes desses extratos brutos obtidos do estudo das espécies de *Guatteriaopsis*. Deve-se ressaltar que este ensaio foi utilizado apenas para a avaliação dos extratos brutos e frações clorofórmicas alcaloídicas e neutras. De acordo com MEYER *et al.* (1982) os valores de toxicidade são considerados ativos até a concentração de 1000 ppm (1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Após análise dos dados obtidos pelo programa computacional “PROBITOS, observou-se que as concentrações letais (CL_{50}) dos extratos brutos de *G. friesiana* e *G. hispida* foram os que apresentaram melhores resultados, quando comparados com os resultados dos extratos brutos de *G. blepharophylla* (TABELA 62). Verificou-se também que os extratos hexânicos brutos foram os que apresentaram melhores resultados quando comparados com os extratos metanólicos brutos. Embora a atividade de toxicidade dos extratos brutos metanólicos tenham sido inferiores aos resultados dos extratos hexânico, todos os extratos com exceção de BCM, BCM, BFM, HFH e HFM que foram inativos, apresentaram-se relativamente mais ativos que a cafeína (MEYER *et al.*, 1982), droga de referência utilizada neste ensaio. Já as frações alcaloídicas provenientes dos extratos metanólicos apresentaram-se mais ativos quando comparado com os seus respectivos extratos metanólicos brutos, bem como os extratos hexânicos, exceto FFMA ($\text{CL}_{50} = 252,60 \mu\text{g.mL}^{-1}$) que apresentou toxicidade superior em relação ao observado para o seu respectivo extrato FFM ($\text{CL}_{50} = 64,54 \mu\text{g.mL}^{-1}$), indicando que os compostos alcaloídicos não são os principais responsáveis pela toxicidade observada para o extrato inicial FFM (TABELA 62).

Dentre os extratos hexânicos bioativos destacam-se HCEH ($\text{CL}_{50} = 8,26 \mu\text{g.mL}^{-1}$), BCEH ($\text{CL}_{50} = 12,30 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e FFH ($\text{CL}_{50} = 21,07 \mu\text{g.mL}^{-1}$) que apresentaram toxicidade inferior a $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Entre os metanólicos destaca-se FCEM com toxicidade inferior a $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($\text{CL}_{50} = 45,78 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Já para os alcaloídicos os melhores resultados foram observados para FCEMA ($\text{CL}_{50} = 19,30 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e FCMA ($\text{CL}_{50} = 19,84 \mu\text{g.mL}^{-1}$) com toxicidade inferior a $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Verificou-se também pela TABELA 62 que a fração alcaloídica BCMA oriunda do extrato metanólico inativo BCM, apresentou forte toxicidade com $\text{CL}_{50} = 50,56 \mu\text{g.mL}^{-1}$, atribuída à presença dos compostos alcaloídicos que apresentam-se mais concentrados em relação ao extrato bruto inicial.

TABELA 62. Toxicidade sobre *Artemia salina* dos extratos brutos e frações clorofórmicas alcaloídicas e neutras das espécies de *Guattertops* (*G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*)

Extratos e Frações	CL ₅₀ (ppm)	Limite de confiança 95% (ppm)	
		menor	maior
FCH	70,44	56,68	87,54
FCM	205,76	127,37	332,40
FCMA	19,84	14,93	26,37
FCMN	23,14	15,14	35,36
FCEH	161,73	73,45	356,15
FCEM	45,78	33,12	63,28
FCEMA	19,30	16,66	22,36
FCEMN	74,54	59,78	91,74
FFH	21,07	16,01	27,75
FFM	64,54	43,05	96,76
FFMA	252,60	129,04	490,57
FFMN	26,82	17,04	42,20
BCH	51,62	41,62	64,03
BCM	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
BCMA	50,56	46,68	57,04
BCMN	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
BCEH	12,30	3,74	40,39
BCEM	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
BCEMA	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
BCEMN	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
BFH	68,02	54,29	85,21
BFM	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
HCEH	8,26	4,84	14,08
HCEM	34,60	28,95	41,35
HFH	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
HFM	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
HCH	24,02	19,56	29,50
HCM	77,27	66,93	89,20
Cafeína ^a	373, 26	191,42	727,81

^a Droga de referência (MEYER *et al.*, 1982); ^b Concentração superior a 1000 ppm; B = *G. blepharophylla*; F = *G. friesiana*; H = *G. hispida*; H = Extrato Hexânico; e M = Extrato Metanólico; A = Clorofômico Alcaloídico; N = Clorofômico Neutro.

5.2.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As TABELAS 63 e 64 mostram os valores de CIM (*Concentração Inibitória Mínima*) dos extratos brutos, frações clorofórmicas alcaloídicas e neutras e compostos isolados contra onze microrganismos testados (dez bactérias e um fungo).

Para os extratos brutos observou-se resultados diferentes dos observados para o teste de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS). Os resultados obtidos para extratos hexânicos foram relativamente menores quando comparados com os resultados do teste de TAS, com destaque para o extrato HCH que demonstrou forte atividade contra *Staphylococcus epidermides* com CIM igual a 150,0 µg.mL⁻¹. Assim como observado para o teste de TAS, os extratos brutos metanólicos de *G. friesiana* e *G. hispida* foram mais ativos do que os extratos brutos de *G.*

blepharophylla com destaque para HCM que demonstrou também potente atividade contra *S. epidermidis* com CIM = 75,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ próximo da droga de referência cloranfenicol (CIM = 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Novamente observou que as frações alcaloídicas obtidas do tratamento ácido-base dos extratos metanólicos demonstraram atividade antimicrobiana relativamente maior do que a observada para o extrato metanólico bruto, indicando provavelmente que o composto ou compostos ou a mistura deles encontram-se presentes nesta fração (TABELA 63).

Dentre as frações alcaloídicas ativas destacam-se BCMA que demonstrou potente atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus equi* e *Staphylococcus aureus* com valores de CIM igual a 75, 150 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e FCMA que demonstrou forte atividade contra *R. equi*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus* com valores de CIM igual a 125, 250 e 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente (TABELA 63).

Para as substâncias isoladas (FIGURA 57) verificou-se resultados significantes (TABELA 64). Praticamente as substâncias isoladas dos extratos hexânicos não demonstraram atividade antimicrobiana, com exceção de **G7**, **G8** e **G9** (provenientes de FFH e FFOE), ao contrário do observado para as substâncias provenientes das frações alcaloídicas que demonstraram diferentes atividades antimicrobiana. Observa-se pela TABELA 64 que a maioria das substâncias dessas frações alcaloídicas demonstraram significantes atividades contra *B. subtilis*, *Candida albicans* e *R. equi*. Algumas substâncias foram mais ativas ou iguais aos compostos de referências, tais como, **G7** e **G8** com CIMs iguais a 300,0 e 200,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *P. aeruginosa*, respectivamente, **G34** (proveniente de FCMA e BCMA) com CIM igual a 15,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *C. albicans*, **G28** (proveniente de FCMA, FCEMA, BCMA e BCEMA) com CIM igual a 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *R. equi*, e **G43** (proveniente de FFMA) contra *C. albicans* com CIM igual a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, indicando um grande potencial antimicrobiano desses compostos frente a esses microrganismos. Já outras apresentaram atividades um pouco acima dos compostos de referências, porém com resultados satisfatórios, tais como, **G8**, **G9** e **G17** (proveniente de FCMA) com CIMs iguais a 100,0, 125,0 e 125,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *R. equi*, respectivamente, **G28** com CIMs igual a 150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ tanto contra *E. faecium* e *M. Luteus*, e **G8** e **G9** ambos com CIMs igual a 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *C. albicans*.

Dentre os microrganismos testados deve-se destacar os resultados obtidos contra *R. equi*, uma vez que não foi encontrado nenhum trabalho envolvendo extratos brutos vegetais, bem como compostos naturais isolados com atividade biológica contra esse microrganismo, sendo importante os resultados aqui apresentados para a medicina veterinária.

O *R. equi* é uma bactéria, inicialmente descrita na medicina veterinária, que causa infecção, sobretudo em potros entre 2 e 6 meses de idade. A infecção é também descrita em cavalos adultos, porcos, bois, caprinos, carneiros, pássaros selvagens e outros animais. Raramente provoca infecção em humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2004). No Brasil a infecção causada por essa bactéria é considerada uma das doenças mais severas principalmente na criação de potros e de alta mortalidade, mesmo com a administração do tratamento com agentes antimicrobianos (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Assim os resultados obtidos nesse trabalho em particular contra o *R. equi* confirmam que compostos naturais podem representar uma importante alternativa na procura por novos agentes antimicrobianos.

TABELA 63. Valores de CIM para os extratos brutos, frações clorofômicas alcaloidicas e neutras

Extratos brutos e frações	Microrganismos ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)										
	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>R. equi</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. epidermides</i>	<i>S. aureus</i>
FCH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FCM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	600
FCMA	250	c	c	c	c	250	c	125	c	c	c
FCMN	250	c	c	c	c	800	c	125	c	c	c
FCEH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FCEM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FCEMA	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FCEMN	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FFH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	800
FFM	c	500	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FFMA	c	c	c	c	c	500	c	400	c	c	c
FFMN	c	c	c	c	c	c	c	250	c	c	c
BCH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCMA	75	c	c	c	c	c	c	125	c	c	100
BCMN	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCEH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	500
BCEM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCEMA	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCEMN	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BFH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BFM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
HCH	c	c	c	600	c	500	c	600	c	150	c
HCM	c	c	c	900	c	c	c	1000	c	75	c
HCEH	c	c	c	c	c	600	c	700	c	600	900
HCEM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	600	c
HFH	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
HFM	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
Cloranfenicol ^a	20		70	120	40	50	850	40	60	40	20
Nistatina ^b		50									

^a Controle positivo para bactéria; ^b Controle positivo para fungo; ^c Concentração superior a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; F = *G. friesiana*; B = *G. blepharophylla*; H = *G. hispida*; H = Extrato Hexânico; e M = Extrato Metanólico; A = Clorofômico Alcaloídico; N = Clorofômico Neutro.

TABELA 64. Valores de CIM para as substâncias puras isoladas

Substâncias puras isoladas	Microrganismos ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)										
	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>R. equi</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. epidermides</i>	<i>S. aureus</i>
G2	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G3	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G7	800	500	c	c	c	800	300	800	c	700	600
G8	600	125	c	600	c	300	200	100	c	700	250
G9	300	125	c	300	c	c	c	125	c	600	c
G11	d	600	d	d	d	d	d	500	d	d	d
G14	1000	250	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G15	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G17	c	d	d	d	d	d	c	125	c	d	c
G20	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G21	c	c	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G22	c	c	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G26	500	250	d	d	d	d	1000	c	c	c	500
G27	c	c	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G28	500	c	150	600	c	150	c	10	c	c	c
G33	c	c	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G34	c	15,6	d	d	d	d	c	c	c	d	c
G35	d	d	d	d	d	d	d	700	d	d	d
G43	500	50	d	d	d	d	d	c	d	d	500
G44	500	500	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G45	125	250	d	d	d	d	c	1000	c	d	c
G47	d	d	d	d	d	d	d	c	d	d	d
Cloranfenicol ^a	20		70	120	40	50	850	40	60	40	20
Nistatina ^b		50									

^a Controle positivo para bactéria; ^b Controle positivo para fungo; ^c Concentração superior a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; ^d Não testado devido pouca quantidade de amostra.

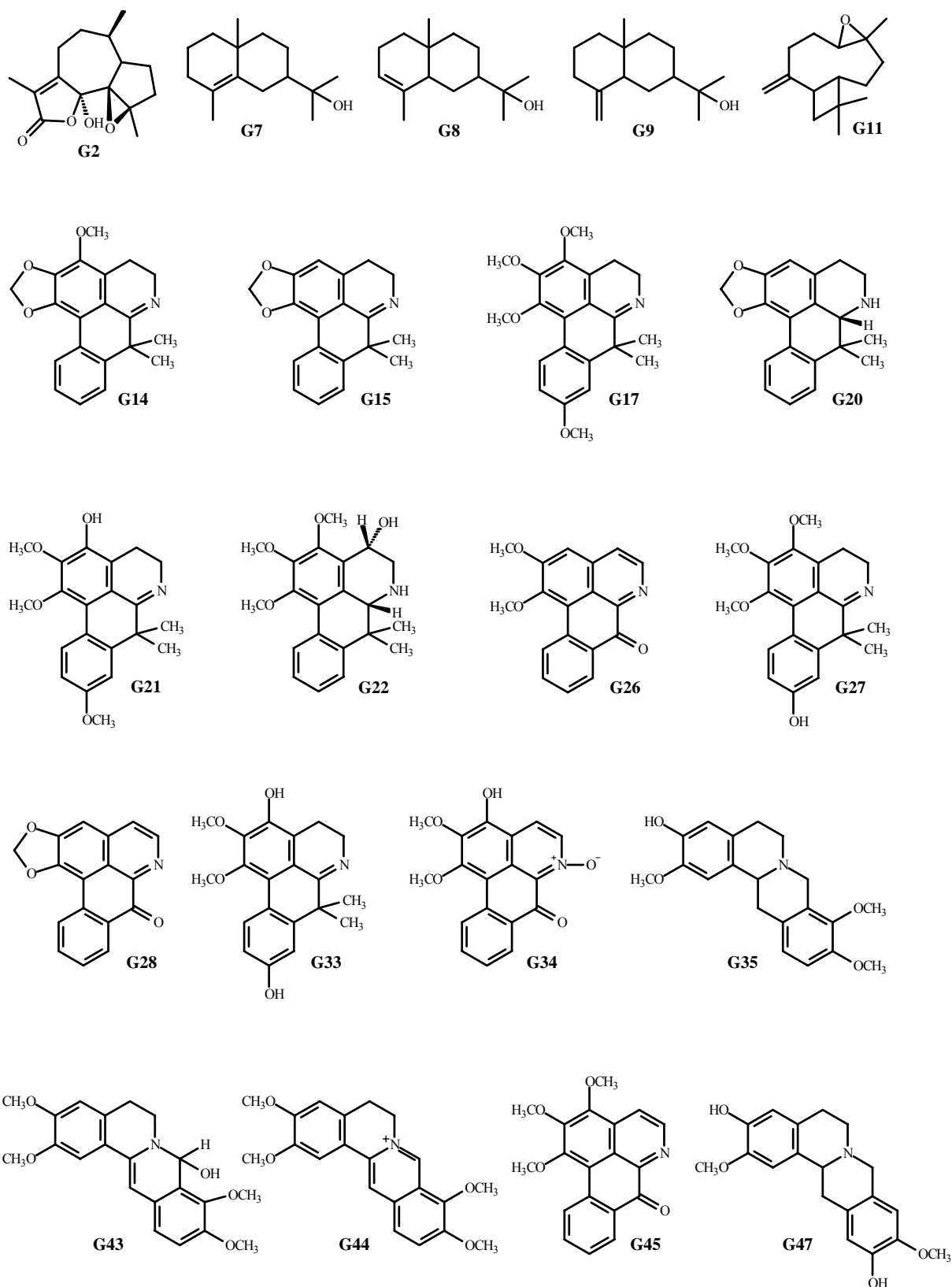


FIGURA 57. Substâncias majoritárias testadas no ensaio de atividade antimicrobiana. Composto **G3** foi testado, porém ainda não foi determinada a sua estrutura molecular.

5.2.3. ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA (ANTITUMORAL)

O resultado do teste de atividade antiproliferativa (antitumoral) é mostrado nas TABELA 65 e 66 apresentado em valores de $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de “*Total Growth Inhibition - TGI*”, ou seja, concentração inibitória de crescimento total da linhagem da célula cancerígena. Conforme observado na TABELA 65 para os extratos brutos, verificou-se que dentre os extratos avaliados das espécies de *Guatteria*, os que apresentaram melhores resultados foram os extratos de *G. friesiana*, com destaque novamente para os extratos hexânicos, estando de acordo com o ensaio de TAS, indicativo de atividade antitumoral de acordo com MEYER *et al.* (1982). Entre os extratos hexânicos, os que mostraram melhores resultados foram BCEH, BCH, FCH e FFH. A maioria dos extratos brutos apresentou alguma atividade antitumoral para alguma linhagem de célula cancerígena, alguns com concentrações menores do que o controle positivo *doxorubicina* ou próximos, como por exemplo, FFH contra linhagem de MCF-7 (câncer de mama) e linhagem de NCI-H460 (câncer de ovário resistente a múltiplos fármacos) com valores de *TGI* iguais a 13,36 e 11,10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (controle positivo 25,00 e 7,75 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), respectivamente. BCH também apresentou melhor resultado contra linhagem de NCI-H460 próximo do controle positivo com valor de 9,05 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Apenas três extratos não apresentaram nenhuma atividade FCEM, BFH e BFM. Conforme mostrado nos ensaios anteriores BFH e BFM também não apresentaram atividade de toxicidade sobre *A. salina* (TAS), bem como atividade antimicrobiana, sendo então não estudados fitoquimicamente (TABELA 65).

BCEM apresentou atividade seletiva para a linhagem de 786-0 (câncer de rim) com valor de *TGI* igual a 17,60 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (*doxorubicina*, *TGI* = 2,59 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Para as frações alcaloídicas observou-se o mesmo comportamento verificado para os testes anteriores (TAS e Antimicrobiano), ou seja, melhores resultados quando comparados com os extratos brutos metanólicos e mais ativos ou próximos dos valores do controle positivo, com destaque para FCMA contra linhagens de NCI-H460, UACC-62 (melanoma), MCF-7 e HT-29 (câncer de colon) com valores de *TGI* iguais a 2,86, 4,42, 34,84 e 31,46 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente (TABELA 65). BCEMA apresentou *TGI* igual a 28,28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra linhagens de OVCAR-3 (câncer de ovário) acima do controle positivo (*doxorubicina*, *TGI* = 5,93 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) (TABELA 65).

Para os compostos isolados (FIGURA 58) observou-se também atividades significantes, com destaque para os compostos isolados das frações alcaloídicas, novamente alguns mais

ativos que o controle positivo ou próximos (TABELA 66), como por exemplo, **G15**, **G20** e **G21** provenientes de FCMA, com valores de *TGI* iguais a 11,01, 21,50 e 21,55 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra linhagens de MCF-7 (doxorubicina, *TGI* = 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e 24,27, 27,28 e 23,29 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra linhagens de HT-29 (doxorubicina, *TGI* > 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), respectivamente. **G28** (proveniente de FCMA, FCMA, BCMA e BCEMA) e **G32** (proveniente de FCMA), também foram mais ativos do que a doxorubicina contra linhagens de MCF-7 apresentando pronunciada atividade antiproliferativa, com valores de *TGI* iguais a 10,36 e 13,51 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. **G34** (proveniente de FCMA e BCMA) também foi mais ativo contra linhagens de MCF-7 com *TGI* igual a 22,71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

G47 proveniente das frações alcaloídicas BCEMA e BCMA apresentou atividade seletiva contra linhagens de NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos) com *TGI* igual a 43,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, porém acima do controle positivo (doxorubicina, *TGI* = 8,04 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). **G19** foi considerado o composto alcaloídico mais eficaz dentre os avaliados, demonstrando resultados próximos do controle positivo, como os resultados obtidos contra linhagens de NCI-ADR/RES, 786-0, NCI-H460, PC-3 e OVCAR-3 (TABELA 66), bem com pronunciada atividade antiproliferativa contra linhagens de MCF-7 e HT-29 com *TGI* iguais a 5,93 e 10,31 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente (TABELA 66).

Para os compostos isolados dos extratos hexânicos os melhores resultados foram vistos para **G7** e **G8** provenientes de FFH com forte atividade contra linhagens de MCF-7 (*TGI* = 22,63 e 20,10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), NCI-ADR/RES (*TGI* = 2,51 e 2,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e K-562 (ambos *TGI* < 0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), abaixo dos valores de *TGI* do controle positivo, 25,00, 8,04 e 0,90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. **G9** outro composto proveniente de FFH também apresentou forte atividade contra linhagem de K-562 com *TGI* igual a 0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (TABELA 66). Provavelmente a forte atividade antiproliferativa demonstrada por este extrato (FFH) deve ser atribuída à presença desses três compostos (**G7**, **G8** e **G9**), uma vez que os resultados obtidos para estes compostos separadamente foram relativamente mais ativos que o seu respectivo extrato de origem.

Os resultados de atividade antiproliferativa *in vitro* obtidos para estes compostos isolados são considerados bastante promissores, e indicam que novas investigações agora *in vivo* são necessários em busca de estabelecer sua verdadeira eficácia, bem como sua toxicidade, visando à procura por novos fármacos biologicamente ativos de origem vegetal.

TABELA 65. Valores de TGI (*Total Growth Inhibition*) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os extratos brutos e frações alcaloídicas e neutras

Extratos e frações	TGI ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)								
	UACC-62 ^b	MCF-7 ^b	NCI-ADR/RES ^b	786-0 ^b	NCI-H460 ^b	PC-3 ^b	OVCAR-3 ^b	HT-29 ^b	K-562 ^b
FCH	43,39	35,62	80,82	39,27	48,57	27,83	41,87	52,49	13,07
FCM	248,68	c	c	c	c	116,73	c	c	c
FCMA	4,42	34,84	32,49	20,74	2,86	d	28,72	31,46	c
FCMN	25,32	59,98	c	36,89	41,27	d	86,19	c	c
FCEH	58,16	34,12	68,65	47,96	38,58	44,61	46,18	45,11	7,62
FCEM	c	c	c	c	c	c	c	c	c
FFH	29,84	13,36	21,31	c	11,10	25,59	21,77	35,04	4,30
FFM	201,01	c	c	c	c	242,94	c	c	158,00
FFMA	84,56	88,74	70,08	131,42	137,50	204,27	199,73	80,20	d
FFMN	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCH	21,37	28,16	16,18	16,18	9,05	34,32	16,96	39,20	7,23
BCM	229,46	152,25	c	39,27	179,35	169,99	221,16	129,73	71,43
BCMA	92,53	51,53	136,60	169,56	c	244,53	208,77	185,62	d
BCMN	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BCEH	17,25	13,02	14,86	17,60	17,24	15,06	16,13	29,26	12,78
BCEM	c	c	c	17,60	c	c	c	c	c
BCEMA	241,11	c	d	c	250	c	28,28	c	c
BCEMN	26,55	c	d	c	59,53	32,43	11,00	40,86	50,01
BFH	c	c	c	c	c	c	c	c	c
BFM	c	c	c	c	c	c	c	c	c
HCH	43,76	130,75	77,72	39,23	187,36	60,99	48,42	43,32	15,69
HCM	81,17	c	c	154,61	238,07	119,20	161,44	192,40	27,59
HCEH	48,11	137,90	68,69	52,08	178,90	42,21	47,00	49,25	5,13
HCEM	c	c	c	c	c	c	c	70,28	109,99
HFH	c	c	c	c	c	c	c	c	11,65
Doxorrubicina ^a	0,26	25,00	8,04	2,59	7,75	2,75	5,93	> 25	0,90

^a Controle positivo (Droga de referência); ^b Linhagens de células tumorais: UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (mama resistente a múltiplos fármacos); 786-0 (rim); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K-562 (leucemia); ^c Concentração superior a 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; e ^d Não testado devido pouca quantidade de amostra; F = *G. friesiana*; B = *G. blepharophylla*; H = *G. hispida*; H = Extrato Hexânico; e M = Extrato Metanólico; A = Clorofômico Alcaloídico; N = Clorofômico Neutro.

TABELA 66. Valores de TGI (*Total Growth Inhibition*) em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para os compostos puros isolados

Substâncias puras isoladas	TGI ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)								
	UACC-62 ^b	MCF-7 ^b	NCI-ADR/RES ^b	786-0 ^b	NCI-H460 ^b	PC-3 ^b	OVCAR-3 ^b	HT-29 ^b	K-562 ^b
G2	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
G3	148,59	126,07	86,12	88,57	126,20	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
G7	19,33	22,63	2,51	33,09	9,54	23,48	22,13	<i>d</i>	<0,25
G8	18,01	20,10	2,01	28,73	14,77	14,55	22,30	<i>d</i>	<0,25
G9	48,04	36,48	40,45	31,13	39,36	27,73	33,75	<i>d</i>	<0,25
G11	57,30	62,16	76,45	72,63	67,13	63,86	73,40	64,51	<i>d</i>
G12	78,67	78,40	84,46	77,75	158,72	<i>c</i>	<i>c</i>	183,98	<i>d</i>
G15	23,80	11,01	29,22	17,70	20,11	24,37	25,53	24,27	<i>d</i>
G17	29,06	80,75	40,47	65,63	196,88	39,99	60,91	<i>d</i>	16,13
G19	9,47	5,93	15,76	11,92	13,24	11,19	14,69	10,31	<i>d</i>
G20	13,44	21,50	34,56	38,04	31,87	33,40	47,22	27,28	<i>d</i>
G21	8,86	21,55	117,38	32,56	30,73	37,19	75,62	23,29	<i>d</i>
G22	67,40	<i>c</i>	180,65	168,99	<i>c</i>	171,59	<i>c</i>	173,23	52,54
G26	<i>d</i>	84,21	153,70	<i>c</i>	14,41	> 250	<i>d</i>	66,62	110,76
G27	> 125	> 125	> 125	> 125	> 125	> 125	> 125	> 125	<i>d</i>
G28	17,33	10,36	<i>c</i>	<i>c</i>	24,04	<i>c</i>	102,35	<i>c</i>	<i>d</i>
G32	7,00	13,51	24,68	26,18	26,28	27,26	49,26	59,47	<i>d</i>
G33	12,21	37,32	139,24	39,02	79,67	45,63	120,77	32,29	<i>d</i>
G34	25,95	22,71	106,98	168,15	57,33	108,00	27,59	74,30	<i>d</i>
G38	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>c</i>
G43	<i>d</i>	> 83,30	> 83,30	> 83,30	75,34	> 83,30	<i>d</i>	> 83,30	53,14
G44	80,04	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	239,89	<i>c</i>	150,07
G45	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
G46	<i>d</i>	60,58	71,76	172,88	56,76	152,41	<i>d</i>	53,78	43,24
G47	<i>c</i>	<i>c</i>	43,00	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
G48	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	172,34	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	45,73
Doxorrubicina ^a	0,26	25,00	8,04	2,59	7,75	2,75	5,93	> 25	0,90

^a Controle positivo (Droga de referência); ^b Linhagens de células tumorais: UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (mama resistente a múltiplos fármacos); 786-0 (rim); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K-562 (leucemia); ^c Concentração superior a 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; e ^d Não testado devido pouca quantidade de amostra.

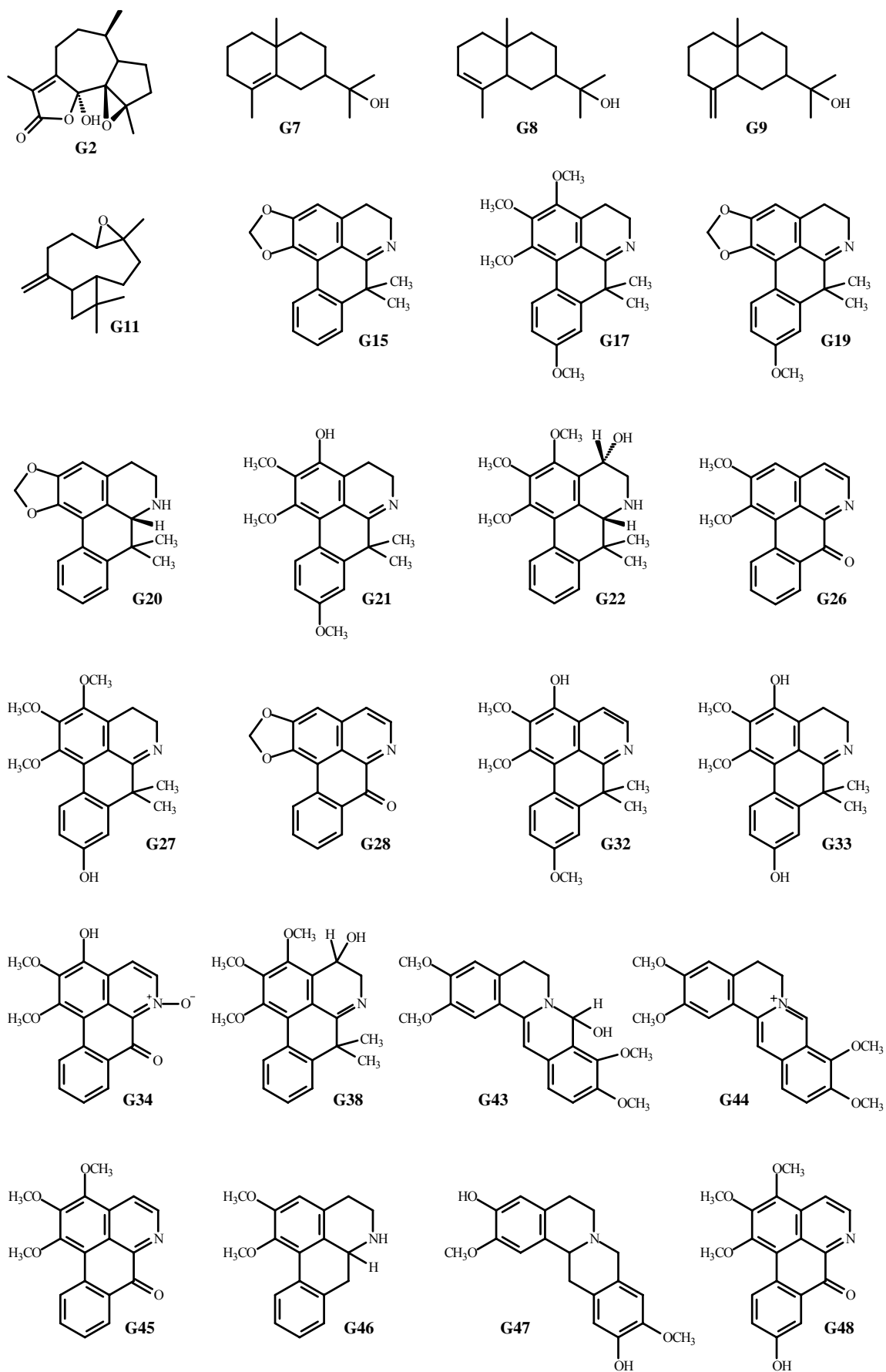


FIGURA 58. Substâncias majoritárias testadas no ensaio de atividade antiproliferativa. Compostos **G3** e **G12** foram testados, porém ainda não foram determinadas as suas estruturas moleculares.

5.3. ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS ESPÉCIES DE *GUATTERIOPSIS*

5.3.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os óleos essenciais das folhas das três espécies de *Guatteriopsis* foram obtidos com 0,24, 0,50 e 0,41% respectivamente para *G. blepharophylla* (**BFOE**), *G. friesiana* (**FFOE**) e *G. hispida* (**HFOE**). O resultado da análise dos óleos essenciais são dados na TABELA 67. Conforme mostrado na TABELA 67 foi possível a identificação de 54 compostos presentes nos óleos essenciais das espécies de *Guatteriopsis*, sendo 20 de *G. hispida*, 33 de *G. blepharophylla* e 8 de *G. friesiana*. Os óleos essenciais analisados são constituídos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos. Os sesquiterpenos representam mais de 90 % dos óleos essenciais de *G. blepharophylla* (90,56%) e *G. friesiana* (97,13%), e 29,25% de *G. hispida*. Os óleos apresentam algumas diferenças quantitativas e qualitativas entre si (TABELA 67). O principal constituinte encontrado no óleo essencial de *G. blepharophylla* foi o óxido de cariofileno com 69,25% do total do óleo. *G. friesiana* foi dominada pelos compostos β -eudesmol (51,60%), γ -eudesmol (23,70%) e α -eudesmol (14,56%), enquanto que para *G. hispida* β -pineno (38,18%), α -pineno (30,77%) e (*E*)-cariofileno (20,59%) foram os majoritários.

Entre os óleos analisados observou-se que no óleo essencial de *G. friesiana* ocorria diferenças significantes quando comparado com os outros óleos essenciais. Os constituintes encontrados nesse óleo não foram observados nos óleos essenciais de *G. hispida* e *G. blepharophylla*, mas alguns constituintes presentes neste óleo foram encontrados em outras espécies de Annonaceae como, por exemplo, α -selineno e espatulenol. Os compostos β -eudesmol, γ -eudesmol e α -eudesmol tem sido encontrados em *Hexalobus crispiflorus* (BOYOM *et al.*, 2003) (Annonaceae). Este é o segundo registro desses compostos na família Annonaceae.

Observou-se também que os compostos óxido de cariofileno, (*E*)-cariofileno, γ -gurjeneno, δ -cadineno, β -selineno, α -trans-bergamoteno e epóxido de humuleno II foram encontrados em ambos os óleos de *G. hispida* e *G. blepharophylla*. Estes resultados estão de acordo com a literatura sobre os compostos encontrados nas espécies da família Annonaceae.

MAIA *et al.* (2005) analisaram o óleo essencial de *G. blepharophylla* e identificou 13 compostos. Em nossa investigação identificou-se cerca de 33 compostos e como constituinte majoritário o óxido de cariofileno, estando de acordo com os dados de MAIA *et al.* (2005).

Entre os 13 compostos identificados por MAIA *et al.* (2005) apenas a substância α -copaeno e epi- α -muurolol não foram identificados no nosso estudo.

Estudos recentes (FOUNIER *et al.*, 1997; MAIA *et al.*, 2005) indicaram que os compostos óxido de cariofileno e espatulenol são também importantes constituintes voláteis presentes nas folhas de *Guatteria ouregou*, *G. sagotiana* and *G. wachenheimi*, de ocorrência na Guiana Francesa. *Guatteriospsis* é citado na literatura como sendo um gênero segregado ao gênero *Guatteria*.

Os compostos óxido de cariofileno, (*E*)-cariofileno e espatulenol tem sido relatados em algumas espécies de *Xylopia*, *Guatteria*, *Hexalobus*, *Pachypodanthium* e *Duguetia*, e são considerados marcadores quimiotaxonômico da família Annonaceae (FOUNIER *et al.*, 1997; FECHINE *et al.*, 2002; BOYOM *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2003; MAIA *et al.*, 2005).

TABELA 67. Composição química do óleo essencial das folhas das espécies de *Guatteriospsis*

Constituintes	RI ^a	<i>G.</i> <i>blepharophylla</i> (%)	<i>G.</i> <i>friesiana</i> (%)	<i>G.</i> <i>hispidia</i> (%)
1 α -Pineno	934			30,77
2 Canfeno	944			0,43
3 β -Pineno	977			38,18
4 Mirceno	991			0,47
5 <i>p</i> -Cimeno	1022			0,10
6 Limoneno	1026			0,36
7 Citronelal	1152	0,08		
8 α -Terpinen-4-ol	1174			0,08
9 α -Terpineol	1188			0,13
10 δ -Elemeno	1336	0,11		
11 Ciclosativeno	1368	0,12		
12 α -Ylangeno	1373	0,89		0,27
13 β -Bourboneno	1388	0,21		
14 β -Elemeno	1390	1,18		
15 (<i>E</i>)-Cariofileno	1420	0,99		20,59
16 β -Ylangeno	1425	0,12		
17 α - <i>Trans</i> -bergamoteno	1434	0,33		0,13
18 Aromadendreno	1441	0,10		
19 α -Humuleno	1451			0,70
20 (<i>E</i>)- β -Farneseno	1458			0,46
21 <i>Trans</i> -cadina-1-(6),4-dieno	1475			0,16
22 γ -Gurjuneno	1479	0,24		0,63
23 γ -muuroleno	1478	0,15		
24 γ -curcumeno	1482	0,68		
25 γ -Himachaleno	1485			1,44
26 Germacreno D	1489	0,14		
27 epi-Cubebol	1492	0,14		
28 β -Selineno	1493	0,39		0,78
29 Cupareno	1496			
30 β -Bisaboleno	1507	0,31		

31	γ -Cadineno	1511	0,18		
32	δ -Cadineno	1523	1,07		1,20
33	<i>Trans</i> -cadina-1(2),4-dieno	1531	0,38		
34	α -Calacoreno	1541	0,69		
35	Elemol	1551		2,16	
36	<i>Trans</i> -eter-cadineno	1551	2,03		
37	Germacreno B	1554	0,31		
38	Espatulenol (G13)	1578		2,64	
39	Óxido de cariofileno (G11)	1581	69,25		2,77
40	β -Copaen-4- α -ol	1592	0,70		
41	Epóxido de humuleno II	1609	1,98		0,12
42	10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	1617		1,40	
43	1- <i>epi</i> -Cubenol	1627	0,33		
44	<i>Cis</i> -cadin-4-en-7-ol	1631	1,84		
45	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5-ol ^b	1636	0,55		
46	γ -Eudesmol (G7)	1638		23,70	
47	Hinesol	1641		0,89	
48	Cubenol	1641	0,42		
49	β -Eudesmol (G9)	1660		51,60	
50	α -Eudesmol (G8)	1662		14,56	
51	14-hidroxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	1670	2,50		
52	Ishwarono	1679	2,01		
53	14-oxi- α -muuroleno	1770	0,22		
54	Carissono	1926		0,18	
	Monoterpenos identificados		0,08		70,52
	Sesquiterpenos identificados		90,56	97,13	29,25
	Total		100	100	100

5.3.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das três espécies de *Guatteropsis* são mostrados na TABELA 68. O óleo essencial mais ativo foi o de *G. friesiana* que exibiu uma significativa atividade para todos os microrganismos testados, com forte atividade contra *Rhodococcus equi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermides*, *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Micrococcus luteus* com CIM (*Concentração Inibitória Mínima*) igual a 50, 60, 100, 100, 125, 125 e 125, respectivamente. O óleo de *G. blepharophylla* mostrou atividade moderada contra *C. albicans*, *M. luteus* e *S. aureus* com MIC de 700, 1000 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente e forte atividade para *R. equi* com MIC igual a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. *G. hispida* demonstrou seletiva atividade apenas contra *R. equi* com MIC igual a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (TABELA 68).

A forte atividade observada para o óleo essencial de *G. friesiana* pode ser atribuída ao seu alto grau de constituinte sesquiterpênico (97,13%), assim como o óleo essencial de *G. blepharophylla* (99,57%). A atividade de *G. friesiana* pode ser atribuída particularmente à

mistura dos compostos β -eudesmol (51,60%), γ -eudesmol (23,70%) e α -eudesmol (14,56%) que juntos representam 89,86% do total do óleo essencial analisado (TABELA 68). Ao composto β -eudesmol diversas atividades biológicas tem sido atribuída tais como: ação hipotensiva, agente antihepatotóxico ou antiepilético, e propriedades inseticida e antimicrobiano (ARORA *et al.*, 1967; KISO *et al.*, 1983; CHIOU *et al.*, 1997; DING *et al.*, 2000; KUSUMA *et al.*, 2004; MARINHO *et al.*, 2005). Aos sesquiterpenos em geral e seus derivados, diversas atividades biológicas têm sido atribuído incluindo ações antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória, e antineoplástica (FOUNIER *et al.*, 1997; BOYOM *et al.*, 2003).

A atividade seletiva de *G. hispida* pode ser determinada à mistura dos compostos α - e β -pinene, e (E)-cariofileno e de *G. blepharophylla* ao constituinte óxido de cariofileno. Esses compostos já possuem atividade antimicrobiana comprovada (JUVEN *et al.*, 1994; HARBONE & WILLIAMS, 1995; KIM *et al.*, 1995; CIMANGA *et al.*, 2002; BOYOM *et al.*, 2003; SIBANDA *et al.*, 2004; SHUNYING *et al.*, 2005).

Os três óleos analisados apresentaram potente atividade contra *R. equi*, uma bactéria responsável pela pneumonia em animais e humanos. Estudos atuais realizados com extratos e óleos essenciais de plantas medicinais não revelaram nenhuma atividade contra esta bactéria (SARTORATTO *et al.*, 2004).

A fim de determinar o provável ou prováveis responsáveis pela atividade antimicrobiana apresentada por cada óleo essencial, os constituintes majoritários isolados e ou identificados β -eudesmol (**G9**), γ -eudesmol (**G7**), α -eudesmol (**G8**) e mistura destes (**Mistura A**) na proporção em que foram identificados no óleo essencial de *G. friesiana*, óxido de cariofileno isolado do óleo essencial de *G. blepharophylla*, e α - e β -pinenos, e (E)-cariofileno (padrões testados), bem como mistura destes (**Mistura B**) na proporção em que foram identificados no óleo essencial de *G. hispida* também foram testados, de acordo com os seus respectivos resultados dos seus óleos essenciais brutos (TABELA 68).

Para os compostos isolados do óleo de *G. friesiana* (**G7**, **G8** e **G9**) observou-se que os resultados obtidos não apresentaram a mesma atividade do óleo essencial bruto. Para verificar a possibilidade de um efeito sinérgico, a mistura desses compostos (**Mistura A**), na proporção em que foram identificados no óleo, foi também testada, e mostrou atividade menor do que a apresentada pelo óleo essencial bruto. Uma análise comparativa dessa **Mistura A** com os compostos isolados verificou-se que o efeito sinérgico foi observado apenas contra os microrganismos *B. subtilis* e *S. epidermidis*. Em contraste os compostos puros (**G7**, **G8** e **G9**) foram mais ativos (500, 125 e 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente) contra *C. albicans* do que

a **Mistura A** ($800 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Neste caso, a atividade observada para **G8** e **G9** foi a mesma quando comparado com o óleo essencial bruto, sugerindo que a atividade do óleo é devido a esses dois compostos. Para *P. aeruginosa* observou-se que os compostos **G7** e **G8** foram mais ativos que o óleo essencial bruto e **Mistura A**, indicando um grande potencial antimicrobiano desses dois compostos contra esse microrganismo (TABELA 68).

Para os microrganismos *M. luteus*, *R. equi* e *C. albicans*, a presença de **G7** aparentemente é a razão da baixa atividade apresentada pela **Mistura A**, comparado com os compostos puros **G8** e **G9**. Finalmente de acordo com os resultados obtidos os compostos isolados e **Mistura A** de *G. friesiana* não são os responsáveis pela atividade do óleo essencial contra *E. coli*, *E. faecium*, e *E. hirae* (TABELA 68).

O composto óxido de cariofileno (**G11**) isolado de *G. blepharophylla* apresentou resultados superiores ao óleo essencial bruto, com exceção para *C. albicans* que foi levemente mais ativo. Neste caso provavelmente o composto **G11** não é isoladamente o responsável pela atividade apresentada pelo óleo essencial bruto, indicando um provável efeito sinérgico de outros componentes presentes no mesmo. O mesmo foi observado para os constituintes isolados do óleo essencial de *G. hispida* (α - e β -pinenos, e (*E*)-cariofileno) e mistura destes (**Mistura B**) contra *R. equi* quando comparado com o resultado do seu respectivo óleo essencial bruto, indicando novamente um provável efeito sinérgico de outros componentes presentes neste óleo (TABELA 68).

O estudo desses óleos essenciais das espécies de *Guatteria* nos rendeu um artigo recentemente publicado no periódico científico “*Phytochemistry*” (*Phytochemistry*, 69, 1895-1899, 2008).

TABELA 68. Valores de CIM para os óleos essenciais, compostos puros e misturas A e B das espécies de *Guatterriopsis*

Óleo Essencial / Substâncias puras	Concentração inibitória mínima (µg.mL ⁻¹)										
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. epidermides</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>R. equi</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
<i>G. blepharophylla</i> (BFOE)	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	1000	<i>e</i>	50	<i>e</i>	1000	700
<i>G. friesiana</i> (FFOE)	60	100	250	100	900	125	900	50	600	125	125
<i>G. hispida</i> (HFOE)	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	50	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>
γ-eudesmol (G7)	800	700	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	800	300	800	<i>e</i>	600	500
α-eudesmol (G8)	600	700	<i>e</i>	600	<i>e</i>	300	200	100	<i>e</i>	250	125
β-eudesmol (G9)	300	600	<i>e</i>	300	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	125	<i>e</i>	<i>e</i>	125
Óxido de cariofileno (G11)	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	500	<i>e</i>	<i>f</i>	600
Mistura A ^a	100	300	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	400	<i>e</i>	400	<i>e</i>	250	800
α-pineno	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	500	<i>f</i>	<i>f</i>	100
β-pineno	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	800	<i>f</i>	<i>f</i>	500
(E)-cariofileno	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	600	<i>f</i>	<i>f</i>	250
Mistura B ^b	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	700	<i>f</i>	<i>f</i>	700
Cloranfenicol ^c	20	40	70	120	40	50	850	40	60	20	
Nistatina ^d											50

^a Mistura de β-eudesmol, γ-eudesmol e α-eudesmol na proporção do óleo essencial de *G. friesiana* (razão de 1,0:0,5:0,3); ^b Mistura de β-pineno, α-pineno e (E)-cariofileno na proporção do óleo essencial de *G. hispida* (razão de 1,0:0,8:0,5); ^c Droga de referência para bactéria; ^d Droga de referência para fungo; ^e > 1000 µg.mL⁻¹; ^f Não testado.

5.4. RELAÇÕES QUIMIOTAXONÔMICAS ENTRE OS GÊNEROS *GUATTERIA* E *GUATTERIOPSIS*

Guatteriopsis é um gênero pequeno constituído por cinco espécies (*G. blepharophylla*, *G. friesiana*, *G. hispida*, *G. kuhlmannii* e *G. ramiflora*) distribuído na América do Sul, principalmente na Amazônia brasileira (ERKENS *et al.*, 2007). De acordo com FRIES (1939, 1959), *Guatteriopsis* pertence ao grupo *Guatteria* que consiste de quatro gêneros: *Guatteria*, *Guatteriopsis*, *Guatterielli* e *Heteroptalum* (FIGURA 59). Vários estudos morfológicos (ERKENS *et al.*, 2007), bem como um estudo químico recente envolvendo a análise de óleos essenciais de espécies de *Guatteria* e *Guatteriopsis* (MAIA *et al.*, 2005) têm estabelecido afinidades entre os gêneros desse grupo, em particular entre *Guatteria* e *Guatteriopsis*, indicando provavelmente que estes poderiam ser unidos formando um único gênero, uma vez que a diferença entre ambos são pouca representativas.

Estudos recentes realizados por ERKENS *et al.* (2007) baseado nas relações filogenéticas moleculares (FIGURA 60) das espécies de *Guatteria*, e espécies dos seus gêneros satélites (*Guatteriopsis*, *Guatterielli* e *Heteroptalum*) vieram a confirmar esses estudos morfológicos, bem como quimiotaconômicos, indicando que esses gêneros deveriam ser unidos formando um único gênero (*Guatteria*), por ser o gênero mais antigo dentre os descritos do grupo, seguindo a nomenclatura botânica.

Baseado neste estudo ERKENS & MAAS (2008), transferiram então as espécies dos gênero *Guatteriopsis*, *Guatterielli* e *Heteroptalum* para dentro de *Guatteria*, com base principalmente em sua análise filogenética publicada em 2007 (ERKENS *et al.*, 2007).

Em nosso estudo fitoquímico das espécies de *Guatteriopsis* (*G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*) viemos a contribuir com os recentes trabalhos publicados por ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008), bem como com o trabalho publicado por MAIA *et al.* (2005) sobre estudo dos óleos essenciais das espécies de *Guatteria* (*G. juruensis*, *G. microcalyx*, *G. poeppigiana*) e *Guatteriopsis blepharophylla*, o qual já sugeria um reposicionamento dessas espécies.

Pelos resultados obtidos observamos que os principais constituintes das espécies estudadas (*G. blepharophylla* e *G. friesiana*) foram os alcalóides aporfinoídes e protoberberínicos, compostos estes comumente encontrados em espécies da família Annonaceae, estando assim de acordo com as informações descritas na literatura a respeito de sua ocorrência. Porém alguns compostos apresentavam características não tão comuns em relação a sua ocorrência.

Para *G. friesiana* observou-se que os constituintes majoritários isolados e identificados foram os alcalóides do tipo 7,7-dimetilaporfínicos e 7-hidroxi-7-metilaporfínicos, como já mencionado neste trabalho, sendo estes mais concentrados nas cascas, quando comparado com as folhas e o cerne. De acordo com informações descritas na literatura observou-se que a ocorrência dessas classes de alcalóides está praticamente limitada ao gênero *Guatteria* (GUINAUDEAU *et al.*, 1983, 1988, 1994; PELLETIER, 1987; ZHANG *et al.*, 2002), com um único registro para o gênero *Hornschuchia* (*H. obliqua*) (FECHINE *et al.*, 2003), contribuindo assim com os estudos realizados por ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008). Dentre os 7,7-dimetilaporfínicos, merece destaque o composto **G19** (*guadiscina*), encontrado com frequência em algumas espécies de *Guatteria* (*G. discolor*, *G. multivenia* e *G. schomburgkiana*) podendo ser considerado um marcador quimiotaxonômico desse gênero (GUINAUDEAU *et al.*, 1983; PELLETIER, 1987; ZHANG *et al.*, 2002).

Os alcalóides protoberberínicos foram encontrados apenas no cerne e com maior concentração nas folhas. Entre os isolados o composto com maior relevância quimiotaxonômica é **G36** (*coreximina*). Embora sua ocorrência em Annonaceae não seja tão comum quando comparado com os aporfínóides, tem sido bem representado no gênero *Guatteria*, sendo relatado em três espécies *G. foliosa*, *G. ouregou* e *G. schomburgkiana* (CORTES *et al.*, 1985, 1986; MAHIOU *et al.*, 1994).

Para *G. blepharophylla* os principais constituintes foram os alcalóides aporfínóides (aporfínicos *sensu stricto* e oxoaporfínicos) e protoberberínicos. A presença dos alcalóides do tipo 7,7-dimetilaporfínicos e 7-hidroxi-7-metilaporfínicos não foi observada nesta espécie o que contribuiria de forma significativa com o estudo de ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008), um vez que foram encontrados em *G. friesiana*, o que se esperava encontrar em *G. blepharophylla*. Porém alguns compostos isolados levaram-nos a certas considerações, tais como, **G26** (*lysicamina*) e **G28** (*liriodenina*), e **G48** (*subsessilina*). Embora a ocorrência de **G26** e **G28** seja comum em espécies de Annonaceae, a ocorrência simultânea de ambos é muito frequente em espécies de *Guatteria* (GUINAUDEAU *et al.*, 1983, 1988, 1994; MONTENEGRO *et al.*, 2003). Já **G48** encontrado apenas nas cascas de *G. blepharophylla*, apresenta ocorrência apenas em espécies de *Guatteria* em particular em *G. ouregou* e *G. subsessilis* (HASEGAWA *et al.*, 1972; CORTES *et al.*, 1986), sendo este o terceiro registro na literatura. Com base nessas informações os resultados obtidos para *G. blepharophylla* também contribuem de certa forma com os estudos de ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008).

Já para as substâncias isoladas dos extratos hexânicos a contribuição para com os trabalhos de MAIA *et al.* (2005), ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008) foram menos

significativos, com exceção dos constituintes isolados de *G. blepharophylla*, tais como, **G12** (óxido de cariofileno) e **G13** (espatulenol), os quais são bem representados dentro de *Guatteria* (MAIA *et al.*, 2005).

Com relação ao estudo dos óleos essenciais, discutidos anteriormente, também contribuem de certa forma para com os trabalhos de MAIA *et al.* (2005), ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008).

Baseados nos nossos resultados obtidos concluímos que a transferência destas espécies de *Guatterriopsis* para *Guatteria* pode também ser assegurada com base nas informações quimiotaxonômicas, corroborando com estudo anteriores descritos por MAIA *et al.* (2005), ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008).



FIGURA 59. Representação do grupo *Guatteria*. (A) *Guatteria* sp; (B) *Guatterriopsis blepharophylla*; (C) *Guatterriella tomentosa*; (D) *Heteroptalum spruceanum*. **FONTE:** ERKENS *et al.* (2007).

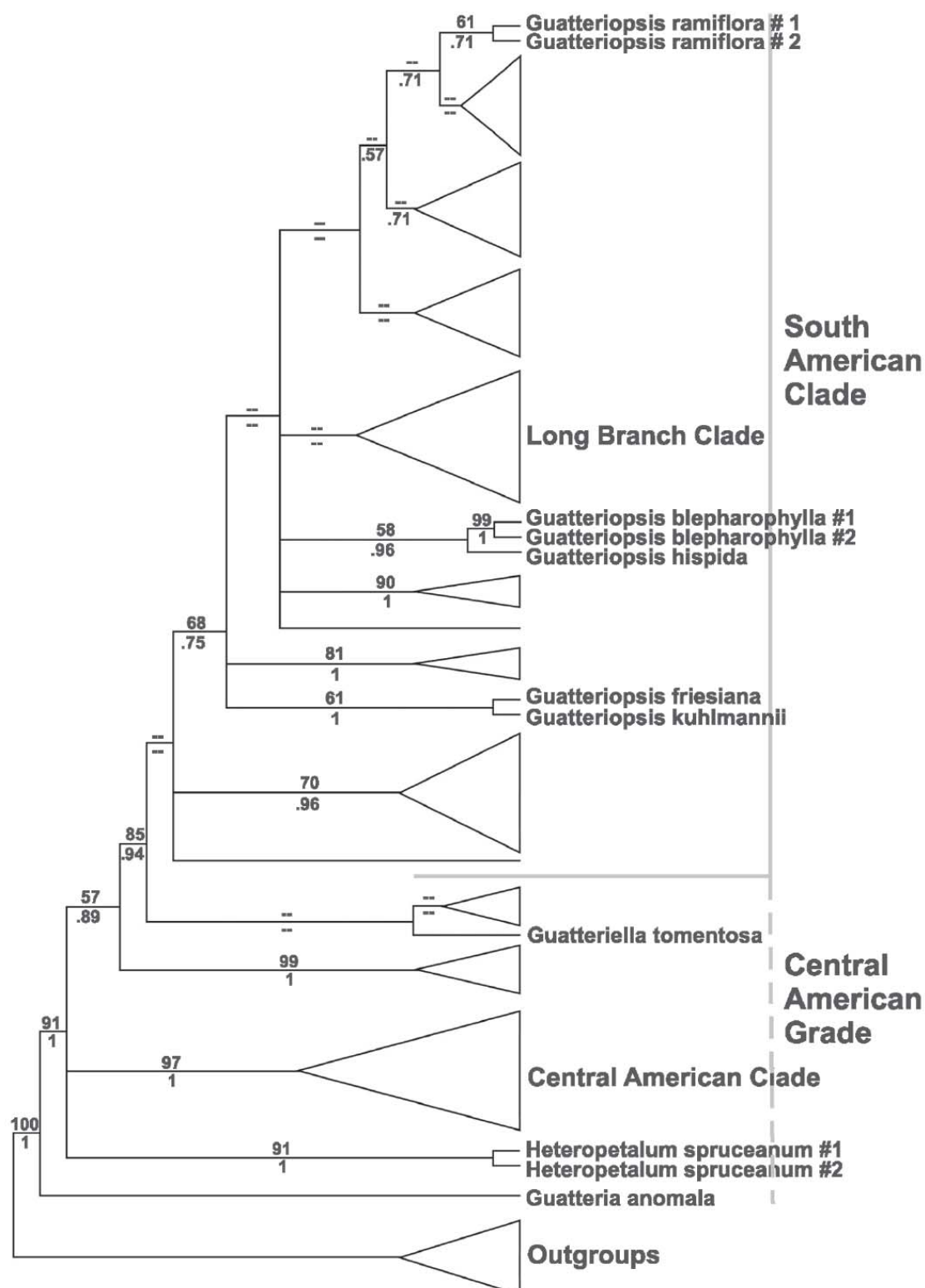


FIGURA 60. Representação esquemática das relações entre os membros que formam o grupo *Guatteria* (ERKENS *et al.*, 2007; triângulos indicam clados recobertos).
FONTE: ERKENS & MAAS (2008).

6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *G. friesiana* e *G. blepharophylla* resultou no isolamento de 78 compostos, sendo 62 de *G. friesiana* e 16 de *G. blepharophylla*, compreendendo 51 compostos diferentes entre substâncias inéditas e conhecidas. Desses 51 compostos, 45 tiveram suas estruturas químicas elucidadas, compreendendo 22 compostos inéditos de acordo com pesquisas realizadas no “*Chemical Abstracts*” e “*Scienfinder Scholar*”.

Os compostos isolados pertencem a quatro classes de compostos naturais, sendo três comumente encontrados em espécies da família Annonaceae, esteróides, sesquiterpenos e alcalóides (aporfinóides e protoberberínicos), e um sendo o primeiro registro nesta família, lactonas sesquiterpênicas. Os sesquiterpenos, lactonas sesquiterpênicas e esteróides foram isolados dos extratos hexânicos, enquanto que os alcalóides foram isolados dos extratos metanólicos.

Os alcalóides aporfinóides (aporfinos, oxoaporfinos, 7,7-dimetilaporfinos e 7-hidroxi-7-metilaporfinos) e protoberberinos foram os principais constituintes químicos isolados praticamente de todos os extratos metanólicos estudados, estando de acordo com as informações da literatura sobre a produção dessas classes de compostos na família Annonaceae.

As espécies estudadas apresentam algumas características químicas próprias que as diferenciam uma da outra, como por exemplo, *G. friesiana* onde os principais compostos isolados foram os 7-aporfinos substituídos (7,7-dimetilaporfinos e 7-hidroxi-7-metilaporfinos) não encontrados na espécie *G. blepharophylla*. O mesmo ocorreu para os sesquiterpenos α -, β -, γ -eudemols encontrados somente nas folhas de *G. friesiana*, e as lactonas sesquiterpênicas encontradas nas três partes de *G. friesiana* (cascas, folha e cerne). As espécies estudadas também apresentaram vários compostos comuns, tais como os alcalóides oxoaporfínicos liriodenina e lysicamina, compostos estes amplamente encontrados na família Annonaceae.

Embora tenha se observado essas particularidades, a maioria dos compostos isolados, principalmente os alcalóides estão de acordo com as substâncias encontradas em espécies de Annonaceae, particularmente em espécies do gênero *Guatteria*.

Do estudo dos óleos essenciais das três espécies foi possível a identificação de 54 compostos, alguns comuns entre si, sendo 33 de *G. blepharophylla*, 8 de *G. friesiana* e 20 de *G. hispida*. O principal constituinte encontrado no óleo essencial de *G. blepharophylla* foi o óxido de cariofileno (69,25%). *G. friesiana* possui predominantemente β -eudesmol (51,60%),

γ -eudesmol (23,70%) e α -eudesmol (14,56%), enquanto que para *G. hispida*, β -pineno (38,18%), α -pineno (30,77%) e (*E*)-cariofileno (20,59%). Os principais constituintes de *G. blepharophylla* (óxido de cariofileno **G11**) e de *G. friesiana* (γ -, α -, β -eudesmol **G7**, **G8** e **G9**, respectivamente) também foram isolados e identificados espectroscopicamente.

Em relação aos estudos biológicos os compostos isolados apresentaram significativas atividades biológicas com especial atenção para o ensaio antiproliferativo *in vitro*, como por exemplo, **G28**, **G15**, **G32**, **G20**, **G21** e **G34**, com valores de TGI de 10,36, 11,01, 13,51, 21,50, 21,55 e 22,71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra linhagens tumorais humanas de mama – MCF-7 (como controle: doxorubicina, TGI = 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). **G15**, **G20** e **G21** apresentaram forte atividade contra linhagens tumorais humanas de cólon – HT-29 com valores de TGI de 24,27, 27,28 e 23,29 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (controle, TGI > 25,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), respectivamente. **G7** e **G8** demonstram significativa atividade contra linhagens de MCF-7 (TGI = 22,63 e 20,10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), linhagens tumorais humanas de mama com fenótipo de resistência a múltiplas drogas – NCI-ADR/RES (TGI = 2,51 e 2,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e leucemia – K-562 (ambos TGI < 0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), abaixo do valores de TGI do controle positivo (25,00, 8,04 e 0,90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente).

Para o ensaio antimicrobiano os melhores resultados foram observados para **G7** e **G8** com CIMs de 300,0 e 200,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente, **G34** e **G43** com CIMs de 15,6 e 50,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente contra *Candida albicans*, e **G28** com CIM de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *Rhodococcus equi*.

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam que as espécies estudadas (*G. blepharophylla*, *G. friesiana* e *G. hispida*) são típicas de Annonaceae, uma vez que seus principais constituintes químicos são encontrados em diversos gêneros dessa família, tais como, *Annona*, *Artabotrys*, *Cleistopholis*, *Desmos*, *Duguetia*, *Fusae*, *Goniothalamus*, *Guatteria*, *Guatterriopsis*, *Hexalobus*, *Melodorum*, *Pachypodanthium*, *Piptostigma*, *Uvaria*, *Xylopia*, entre outros. Os resultados também confirmam o grande potencial farmacológico dessas espécies na busca por novos fármacos biologicamente ativos.

Os resultados obtidos ainda foram significativos para a quimiotaxonomia do gênero *Guatterriopsis*, uma vez que nenhum estudo fitoquímico exceto o de MAIA *et al.* (2005) envolvendo óleos essenciais de *G. blepharophylla*, havia sido realizado com as espécies desse gênero. Além disso os mesmos também contribuem com os estudos realizados por ERKENS *et al.* (2007) e ERKENS & MAAS (2008), os quais sugerem que essas espécies sejam transferidas para dentro de *Guatteria*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois.
- AKENDENGUE, B.; ROBLLOT, F.; LOISEAU, P. M.; BORIES, C.; NGOU-MILAMA, E.; LAURENS A.; HOCQUEMILLER, R. 2002. Klaivanolide, an antiprotozoal lactone from *Uvaria klaineana*. *Phytochemistry* 59, 885-888.
- ALALI, F. Q.; LIU, X.-X.; MCCLAUGHLIN, J. L. 1999. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *Journal of Natural Products* 62, 504-540.
- ALAWA, C. B. I.; ADAMU, A. M.; GEFU, J. O.; AJANUSI, O. J.; ABDU, P. A.; CHIEZEY, N. P.; ALAWA, J. N.; BOWMAN, D. D. 2003. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology* 113, 73-81.
- ARORA, C. K.; ARORA, R. B.; MESTA, C. K.; SHANBAG, S. N.; SESHARI, R.; MAHESHARI, M. L.; BATTACHARYA, S.C. 1967. Hypotensive activity of β -eudesmol and some related sesquiterpenes. *Indian Journal of Medical Research* 55, 463-472.
- BLANCHFIELD, J. T.; SANDS, D. P. A.; KENNARD, C. H. L.; BYRIEL, K. A.; KITCHING, W. 2003. Characterisation of alkaloids from some Australian *Stephania* (Menispermaceae) species. *Phytochemistry* 63, 711-20.
- BOYOM, F. F.; NGOUANA, V.; ZOLLO, P. H. A.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J. 2003. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry* 64, 1269-1275.
- BRAGA, R. 1976. *Plantas do Nordeste especialmente do Ceará*. 4^a ed., Editora Universitária UFRN, Natal-Rio grande do Norte, 540 p.
- CHANG, F.-R.; WEI, J.-L.; TENG, C.-M.; WU, Y.-C. 1998. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry* 49, 2015-2018.
- CHANG, F.-R.; WEI, J.-L.; TENG, C.-M.; WU, Y.-C. 1998. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry* 49, 2015-2018.
- CHANG, F.-R.; CHEN, C.-Y.; WU, P.-H.; KUO, R.-Y.; CHANG, Y.-C.; WU, Y.-C. 2000. New alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Natural Products* 63, 746-748.

- CHANG, Y.-C.; CHANG, F.-R.; WU, Y.-C. 2000. The constituents of *Lindera glauca*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 47, 373-380.
- CHATROU, L. W.; RAINER, H.; MAAS, P. J. M. 2004. In: *Annonaceae (Soursop Family)*: Smith N. *et al.* (eds.). Flowering Plants of the Geotropism, p. 18-20. New York Botanical Garden, New York.
- CHEN, C.-Y.; CHANG F.-R.; PAN. W.-B.; WU, Y.-C. 2001. Four alkaloids from *Annona cherimolia*. *Journal of Natural Products* 56, 753-757.
- CHEN, C.-Y.; CHANG, F.-R.; WU, Y.-C. 1997. The constituents from the stems of *Annona cherimola*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 44, 313-319.
- CHIA, Y.-C.; CHANG, F.-R.; MING, LI, C.-M.; WU, Y.C. 1998. Protoberberine alkaloids from *Fissistigma balansae*. *Phytochemistry* 48, 367-369.
- CHIOU, L.-C.; LING, J.-Y.; CHANG, C.-C. 1997. Chinese herbs constituent β -eudesmol alleviated the electroshock seizures in mice and electrographic seizures in rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters* 231, 171-174.
- CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, I.; HERMANS, N.; TOTTÉ, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 213-220.
- CORRÊA, M. P. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. IBDF, Rio de Janeiro.
- CORTES, D.; HOCQUEMILLER, R.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; MORRETTI, C. 1986. Annonaceae alkaloids. Part 68. Alkaloids from *Guatteria ouregou* leaves. *Journal of Natural Products* 49, 878-884.
- CORTES, D.; RAMAHATRA, A.; CAVÉ, A.; BAYMA, J.C.; DADOUN, H. 1985. Alkaloids from Annonaceae. LVIII. Alkaloids from the bark of *Guatteria schomburgkiana*. *Journal of Natural Products* 48, 254-259.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; XAVIER, C. M.; SILVA, J. R. A.; AMARAL, A. C. F.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; FERREIRA, A. G.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L. P. J. 2006. A Pyrimidine- β -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *Journal of Natural Products* 69, 292-294.
- COSTA, E. V.; TEIXEIRA, S. D.; MARQUES, F. A.; DUARTE, M. C. T.; DELARMELINA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; TRIGO, J. R.; MAIA, B. H. L. N. S. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatteropsis* species. *Phytochemistry* 69, 1895-1899.

- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, cap. 24, pp. 1250-1318.
- DA SILVA, J. M. C.; RYLANDS, A. B.; Da FONSECA, G. A. B. 2005. The fate of the Amazonian areas of endemism. *Conservation Biology* 19 , 689-694.
- DEWICK, P. M. 2002. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: 2^a ed. John Wiley & Sons, LTD, 507p.
- DING, H.-Y.; WU, Y.-C.; LIN, H.-C. 2000. Phytochemical and pharmacological studies on Chinese changzhu. *Journal of the Chinese Chemical Society* 47, 561-566.
- DIRZO, R.; RAVEN, P. H. 2003. Global state of biodiversity and loss. *Annual Review of Environment and Resources* 28 , 137-167.
- DOS REIS, M. S. 1996. Manejo Sustentado de Plantas Medicinais em Ecossistemas Tropicais. In: Di Stasi, L.G. 1996. *Plantas Medicinais Arte e Ciência: Um guia de estudo interdisciplinar*, cap. 14, pp. 199-215. São Paulo: Editora UNESP.
- EE, G. C. L.; LEE, H. L.; GOH, S. H. 1999. Larvicidal activity of Malaysian *Goniothalamus* species. *Natural Product Letters* 13, 137-142.
- ELLOF, J.N. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica* 64, 711-713.
- ERKENS, R. H. J.; CHATROU, L. W.; KOEK-NOORMAN, J.; MAAS, J. W.; MAAS, P. J. M. 2007. Classification of a large and widespread genus of Neotropical trees, *Guatteria* (Annonaceae) and its three satellite genera *Guatterrella*, *Guatteropsis* and *Heteropetalum*. *Taxon* 56, 757-774.
- ERKENS, R. H. J.; MAAS, P. J. M. 2008. The *Guatteria* group disentangled: sinking *Guatteropsis*, *Guatterella*, and *Heteropetalum* into *Guatteria*. *Rodriguésia* 59, 401-406.
- FARRUGIA, L. J. 1997. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *Journal of Applied Crystallography* 30, 565.
- FATOPE, M. O.; AUDU, O. T.; TAKEDA, Y.; ZENG, L.; SHI, G.; SHIMADA, H.; McLAUGHLIN, J. L. 1996. Bioactive *ent*-Kaurano diterpenoids from *Annona senegalensis*. *Journal of Natural Products* 59, 301-303.
- FECHINE, I. M.; NAVARRO, V. R.; DA CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S.; MAIA, J.G.S.; BARBOSA-FILHO, M. 2002. Alkaloids and volatile constituents from *Duguetia flagellaris*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30, 267-269.

- FOUNIER, G.; HADJIAKHOONDI, A.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1997. Essential oils of Annonaceae. Part. VIII. Volatile constituents of the essential oils from three *Guatteria* species. *Journal of Essential Oil Research* 9, 275-278.
- FRIES, R. E. 1939. Revision der Arten einiger Annonaceen-Gattungen V. *Acta Horti Berg.* 12, 289-577.
- FRIES, R. E. 1959. Annonaceae. Pp. 1-171 in: Engler, A. & Prantl, K. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 2nd ed., vol. 17a II. Duncker & Humblot, Berlin.
- GEMTCHÚJNICOV, I. D. 1976. *Manual de Taxonomia Vegetal: plantas de interesse econômico*. São Paulo-SP, Ed. Agronômica Ceres, 368 p. il.
- GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E.; NAVARRETE, A.; REYES, B.; CEDILLO-PORTUGAL, E.; HONG, E. 2001. Anticonvulsant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia*. *Planta Medica* 67, 136-141.
- GOVINDACHARI, T. R.; RAJADURAI, S.; SUBRAMANIAN, M.; VISWANATHAN, N. 1957. Syntheses of protoberberine alkaloids. *Journal of Chemical Society*, 2943-2945.
- GRYCOVÁ, L.; DOSTÁL, J.; MAREK, R. 2007. Quaternary protoberberine alkaloids. *Phytochemistry* 68, 150-175.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1975. Aporphine alkaloids. *Lloydia* 38, 275-338.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1979. Aporphine alkaloids II. *Journal of Natural Products* 42, 325-360.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1983. Aporphine alkaloids III. *Journal of Natural Products* 46, 761-835.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1988. Aporphine alkaloids IV. *Journal of Natural Products* 51, 389-474.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. 1994. Aporphine alkaloids V. *Journal of Natural Products* 57, 1033-1135.
- HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. 1995. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural product reports* 7, 453-455.
- HARBORNE, J. B. 1988. *Introduction to ecological biochemistry*. 3^a ed., London, Academic Press.
- HASEGAWA, M.; SOJO, M.; LIRA, A.; MARQUEZ, C. 1972. Structure of homomoschatoline and subessiline. *Acta Científica Venezolana* 23, 165-167.
- HASLAM, E. 1993. *Shikimic acid metabolism and metabolites*. Chichester: John Wiley, 387p.
- HEYWOOD, V. H. 1978. *Flowering Plants of the World*. University Press, Oxford.

- IRVINE, F. R. 1961. Wood plants of Ghana. With special reference to their uses. London: Oxford University Press.
- JARAMILLO, M. C.; ARANGO, G. J.; GONZÁLEZ, M. C.; ROBLEDÓ, S. M.; VELEZ, I. D. 2000. Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. *Fitoterapia* 71, 183-186.
- JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWIC, H. 1994. Factors that interact with antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology* 76, 626-631.
- KESSLER, P. J. A. 1993. *Annonaceae*. In: Kubitski, K., Rohwer, J. C., Bittrich, V. (eds.). The families and genera of vascular plants II: Flowering plants. Dicotyledons. Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families, pp. 93-129, Springer-Verlag, Berlin.
- KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D. 2002. Antimicrobial activity of *Michelia champaca*. *Fitoterapia* 73, 744-748.
- KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 43, 2839-2845.
- KISO, Y.; TOHKIN, M.; HIKINO H. 1983. Antihepatotoxic principles of *Atractylodes* rhizomes. *Journal of Natural Products* 46, 651-654.
- KUO, R.-Y.; CHANG, F.-R.; CHEN, C.-Y.; TENG, C.-M.; YEN, H.-F., WU, Y.-C. 2001. Antiplatelet activity of *N*-methoxycarbonyl aporphines from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry* 57, 421-425.
- KÜPELİ, E.; KOŞAR, M.; YEŞİLADA, E.; BAŞER, K. H. C.; BAŞER, C. 2002. A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of Turkish *Berberis* species. *Life Sciences* 72, 645-657.
- KUSUMA, I. W.; OGAWA T.; ITOH, K.; TACHIBANA, S. 2004. Isolation and identification of an antifungal sesquiterpene alcohol from *Amboyna* wood. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7, 1735-1740.
- LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. 1982. The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry* 21, 2783-2813.
- LI, T.-M.; LI, W.-K.; YU, J.-G. 1997. Flavonoids from *Artabotrys hexapetalus*. *Phytochemistry* 45, 831-833.
- LIMA, M. A.; FECHINE, I. M.; SILVA, M. S.; MAIA, J. G. S.; CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M. 2003. Alkaloids and volatile constituents from *Guatteria juruensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 423- 425.

- LÓPEZ, D. S.; HILL, A. P.; CASTRO, H. V. 2002. Estudio químico en especies cubanas del género *Annona* II. *Annona sclerophylla* Safford. *Revista Cubana de Farmacia* 36, 107-111.
- LUCKNER, M. 1990. *Secondary metabolism in microorganisms, plants, and animals*. 3rd. ed. Jena: gustav Fischer, 562p.
- MAAS, P. J. M.; KAMER, H. M.; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R.; RAINER, H. 2001. Annonaceae from central-eastern Brazil. *Rodriguésia* 52, 61-94.
- MAAS, P. J. M.; MAAS, H.; MIRALHA, J. M. S.; JUNIKKA, L. 2007. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. *Rodriguésia* 58, 617-662.
- MAHIOU, V.; ROBLLOT, F.; FOURNET, A.; HOCQUEMILLER, R. 2000. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Guatteria boliviana* (Annonaceae). *Phytochemistry* 54, 709-716.
- MAHIOU, V.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; DE ARIA, A.R.; INCHAUSTI, A.; YALUFF, G.; FOURNET, A.; ANGELO, A. 1994. Alkaloids of the Annonaceae. 98. New aporphine alkaloids from *Guatteria foliosa*. *Journal of Natural Products* 57, 890-895.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; CARREIRA, L. M. M.; OLIVEIRA, J.; ARAÚJO, J. S. 2005. Essential oils of the Amazon *Guatteria* and *Guatteriopsis* species. *Flavour and Fragrance Journal* 20, 478-480
- MANN, J. 1994. *Chemical Aspects of Biosynthesis*. Oxford University Press, 92p.
- MARINHO, C.G.S.; DELLA LUCIA, T.M.C.; GUEDES, R.N.C.; RIBEIRO, M.M.R.; LIMA, E.R. 2005. β -eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 117, 89-93.
- MARTÍNÉZ-VÁZQUEZ, M.; LOZANO, D. G DE LA CUEVA, ESTRADA-REYES, R.; GONZÁLEZ-LUGO, N. M.; APAN, T. R.; HEINZE, G. 2005. Bio-guided isolation of the cytotoxic corytenchine and isocoreximine from roots of *Annona cherimolia*. *Fitoterapia* 76, 733-736.
- MATTOS, F. J. A. 1997. Introdução a fitoquímica experimental. 2^a ed. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 141p.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45, 31-34.
- MICHAEL, A.S.; THOMPSON, C.G.; ABRAMOVITZ, M. 1956. *Artemia salina* as a test organism for a bioassay. *Science* 123, 464.
- MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A.; GRAY-GOODRICH, M.; CAMPBELL, H.; MAYO,

- J.; BOYD, M. 1991. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. *Journal of the National Cancer Institute* 83, 757-766.
- MONTENEGRO, H.; GUTIÉRREZ, M.; ROMERO, L. I.; ORTEGA-BARRIA, E.; CAPSON, T. L.; RIOS, L. C. 2003. Aporphine alkaloids from *Guatteria* spp. with leishmanicidal activity. *Planta Medica* 69, 677-679.
- MOOTOO, B. S.; ALI, A.; KHAN, A.; REYNOLDS, W. F.; MCLEAN, S. 2000. Three novel monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona montana*. *Journal of Natural Products* 63, 807-811.
- MURILO, J.; RESTREPO, D. 2000. *Las anonáceas de la región de Araracuara*. Estudios en la Amazonía Colombiana XX Soporte Editorial, Bogotá, 218p.
- NKUNYA, M. H. H.; WAIBEL, R.; ACHENBACH, H. 1993. Three flavonoids from the stem bark of the antimalarial *Uvaria dependens*. *Phytochemistry* 34, 885-888.
- OLIVEIRA, G. F. X.; NEVES, D. R.; PEDROSA, H. A.-S. R.; VIANA, A. R. 2004. Infecção por *Rhodococcus equi* em imunossuprimidos: uma revisão. *Revista do Ministério da. Saúde Pública* 5, 43-60.
- OMAR, S.; CHEE, C. L.; AHMAD, F.; NI, J. X.; JABER, H.; HUANG, J.; NAKATSU, T. 1992. Phenanthrene lactams from *Goniothalamus velutinus*. *Phytochemistry* 31, 4395-4397.
- ORTIZ, A. G.; SUAREZ, L. E. C.; PATIÑO, G. S. 2007. Aporfinoides en hojas de *oxandra longipetala* r. e. fr. (Annonaceae). *Scientia et Technica Año XIII* 33, 19-22.
- OSORIO, E.; ARANGO, G. J.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; PACO, M. A. GIMÉNEZ, A. ROBLEDO, S. 2007. Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of Colombian Annonaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 111, 630-635.
- PAREDES, A.; HASEGAWA, M.; PRIETO, F.; MENDEZ, J.; RODRÍGUEZ, M.; RODRÍGUEZ-ORTEGA, M. 2001. Biological activity of *Guatteria cardoniana* fractions. *Journal of Ethnopharmacology* 78, 129-132.
- PAULO, M. DE Q.; BARBOSA-FILHO, J. M.; LIMA, E. O.; MAIA, R. F.; BARBOSA, R. DE C. B. B. C.; KAPLAN, M. A. C. 1992. Antimicrobial activity, of benzyloquinoline alkaloids from *Annona salzmanii*. *D. C. Journal of Ethnopharmacology* 36, 39-41.
- PELLETIER, S. W. 1987. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 5; John Wiley & Sons: New York, Chapter 3.
- QUEIROZ, E. F.; ROBLLOT, F.; CAVÉ, A.; PAULO, M. Q.; FOURNET, A. 1996. Pessoine and spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. *Journal of Natural Products* 59, 438-440.

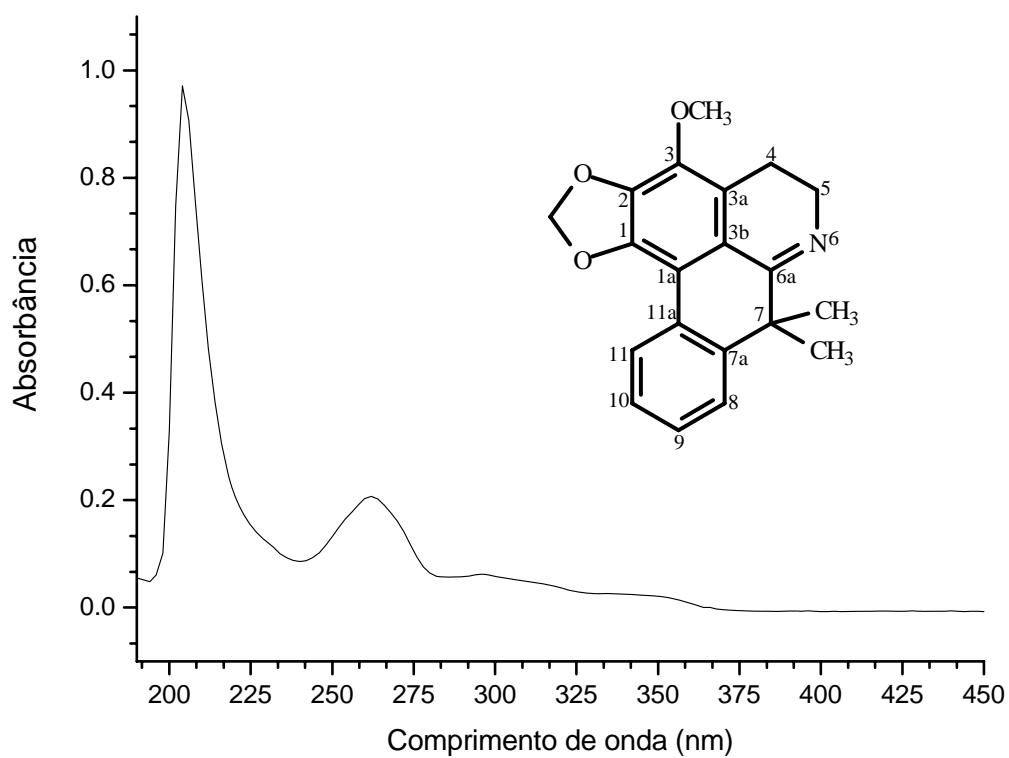
- RAGASA, C. Y.; GANZON, J.; HOFILÉNĀ, J.; TAMBOONG, B.; RIDEOUT, J. A. 2003. A new furanoid diterpene from *Caesalpinia pulcherrima*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51, 1208-1210.
- RAHARIVELOMANANA, P.; BIANCHINI, J.-P.; CAMBON, A.; AZZARO, M.; FAURE, R. 1995. Two-Dimensional NMR of sesquiterpenes. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 33, 233-235.
- RAHMAN, M. M.; LOPA, S. S.; SADIK, G.; HARUN-OR-RASHID; ISLAM, R.; KHONDKAR, P.; ALAM, A. H. M. K.; RASHID, M. A. 2005. Antibacterial and cytotoxic compounds from the bark of *Cananga odorata*. *Fitoterapia* 76, 758-761.
- RIBEIRO, J. E. L. S.; MAAS, P. J. M.; MAAS, H.; MIRALHA, J. M.; WEBBER, A., 1999. Annonaceae. In: Ribeiro, J. E. L. S., Hopkins, M. J. G., Vicentini, A., Sothers, C. A., Costa, M. A. S., Brito, J. M., Souza, M. A. D., Martins, L. H. P., Lohmann, L. G., Assunção, P. A. C. L., Pereira, E. C., Silva, C. F., Mesquita, M. R., Procópio, L. C. (Eds.). *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*, pp.121-135.. DFID (Departamento for International Development), INPA, Manaus – Amazonas,
- RINGDAHL, B.; CHAN, R. P. K.; CRAIG, J. C.; CAVA, M. P.; SHAMMA, M. 1981. Circular dichroism of aporphines. *Journal of Natural Products* 44, 80-85.
- RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y.-H.; MCLAUGHLIN, J. L. 1990. Annonaceous acetogenins - A review. *Journal of Natural Products* 53, 237-278.
- RYLANDS, A. B., et al. 2002. Wilderness: Earth's last wild places. In: Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Gil, P. R.; Pilgrim, J.; Fonseca, G. A. B. da; Brooks, T.; Konstant, W. R. (Eds.). *Amazonia*, pp. 56-107. Agrupacion Serra Madre, S.C., Mexico.: CEMEX.
- SAHPAZ, S.; BORIES C.; CORTES, D.; HOCQUEMILLER, R.; LAURENS A.; CAVÉ A. 1994. Cytotoxic and antiparasitic from *Annona senegalensis* seeds. *Planta Medica* 60, 538-540.
- SÁNCHEZ, M. 1997. *Catálogo preliminar comentado de la flora Del Medio Coquetá*. Estudios en la Amazônia Colombiana XII Impreandes Presencia, Bogotá, 557p.
- SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 35, 275-280.
- SAXENA, R. C.; HARSHAN, V.; SAXENA, A.; SUKUMARAN, P.; SHARMA, M. C.; KUMAR, L. 1993. Larvicidal and chemoterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 9, 84-87.

- SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. 2003. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. Cap. 15, pp. 372-400. In: Simões, C. M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5^a ed. rev. ampl., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS.
- SCHULTES, R. E. 1993. Plants in treating senile dementia in the northwest Amazon. *Journal of Ethnopharmacology* 38, 129-135. Review.
- SETTE, I. M. F.; DA CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DA SILVA, M. S. 2000. The first tetrahydroprotoberberine alkaloid from the genus *Rollinia*. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 393-394.
- SHAMMA, M.; GUINAUDEAU, H. 1984. Biogenetic pathways for the aporphinoid alkaloids. *Tetrahedron* 40, 4795-4822.
- SHELDRICK, G. M. 1990. SHELXS-97: Program for the Solution of Crystal Structures. University of Göttingen, Germany.
- SHELDRICK, G. M. 1997. SHELXL-97: Program for the Refinement of Crystal Structures. University of Göttingen, Germany.
- SHIRWAIKAR, A.; RAJENDRAN, K.; KUMAR, C. D.; BODLA, R. 2004. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 91, 171–175.
- SHUNYING, Z.; YANG, Y.; HUAIDONG, Y.; YUE, Y.; GUOLIN, Z. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 151-158.
- SIBANDA, S.; CHIGWADA, G.; POOLE, M.; GWEBU, E. T.; NOLETTA, J. A.; SCHMIDT, J. M.; REA, A. I.; SETZER, W. N. 2004. Composition and bioactivity of the leaf essential oil of *Heteropyxis dehniae* from Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology* 92, 107-111.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY S.; BOYD, M. R. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of National Cancer Institute* 82, 1107-1118.
- SLEET, R. B.; BRENDAL, K. 1983. Improved methods for harvesting and counting synchronous populations of *Artemia nauplii* for use in developmental toxicology. *Ecotoxicology and environmental safety* 7, 435-446.
- STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LACLERCQ, J. 2005. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents* 5, 173-182.

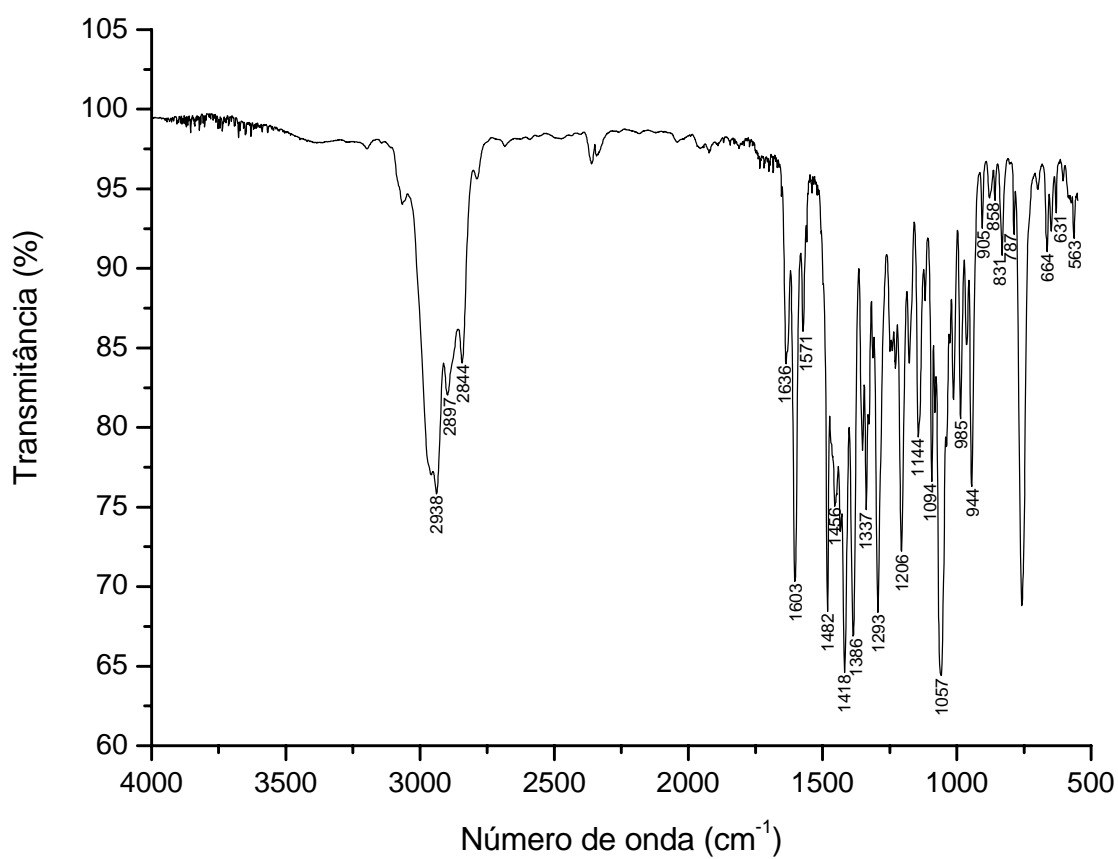
- TAKANO, I.; YASUDA, I.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H. 1995. Guaiane sesquiterpene sactones from *Curcuma eruginosa*. *Phytochemistry* 40, 1197-1200.
- TOLMIE, G. 1975. *Árvores de Manaus*. Manaus, INPA, 312p. il., 1975.
- TSAL, I.-L.; WUN, M.-F.; TENG, C.-M.; ISHIKAWA, T.; CHEN, I.-S. 1998. Anti-platelet aggregation constituents from formosan *Toddalia asiatica*. *Phytochemistry* 48, 1377-1382.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471.
- VANHAECKE, P.; PERSOONE, G.; CLAUS, C.; SORGELOOS, P. 1981. Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicology and environmental safety* 5, 382-387.
- WAFU, P.; NYASSE, B.; FONTAINE, C. 1999. A 7,8-dihydro-8-hydroxypalmatine from *Enantia chlorantha*. *Phytochemistry* 50, 279-281.
- WIJERATNE, E. M. K.; HATANAKA, Y.; TOHRU, K.; TEZUKA, Y.; GUNATILAKA, A. A. L. 1996. A dioxoaporphine and alkaloids of two annonaceous plants of Sri Lanka. *Phytochemistry* 42, 1703-1706.
- WINK, M. 1990. Physiology of secondary product formation in plants. In: Charlwood, B. V., Rhodes, M. J. C. (ed.). Secondary products from plant tissue culture. Oxford: Clarendon.
- WU, Y.-C.; CHANG, G.-Y.; DUTH, C.-Y.; WANG, S.-K. 1993. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. *Phytochemistry* 33, 497-500.
- WU, Y.-C.; HUNG, Y.-C.; CHANG, F.-R.; COSENTINO, M.; WANG, H.-K.; LEE, K.-H. 1996. Identification of *ent*-16 β ,17-dihydroxykauran-19-oic acid as an anti-HIV principle and isolation of new diterpenoids annosquamosins A and B from *Annona squamosa*. *Journal of Natural Products* 59, 635-637.
- YANG, Y.-L.; CHANG, F.-R.; WU, C.-C.; WANG, W.-Y.; WU, Y.-C. 2002. New *ent*-Kaurane Diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from *Annona squamosa*. *Journal of Natural Products* 65, 1462-1467.
- ZHANG, Z.; ELSOHL, H. N.; JACOB, M. R.; PASCO, D. S.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. 2002. New sesquiterpenoids from the root of *Guatteria multivenia*. *Journal of Natural Products* 65, 856-859.

ANEXO I

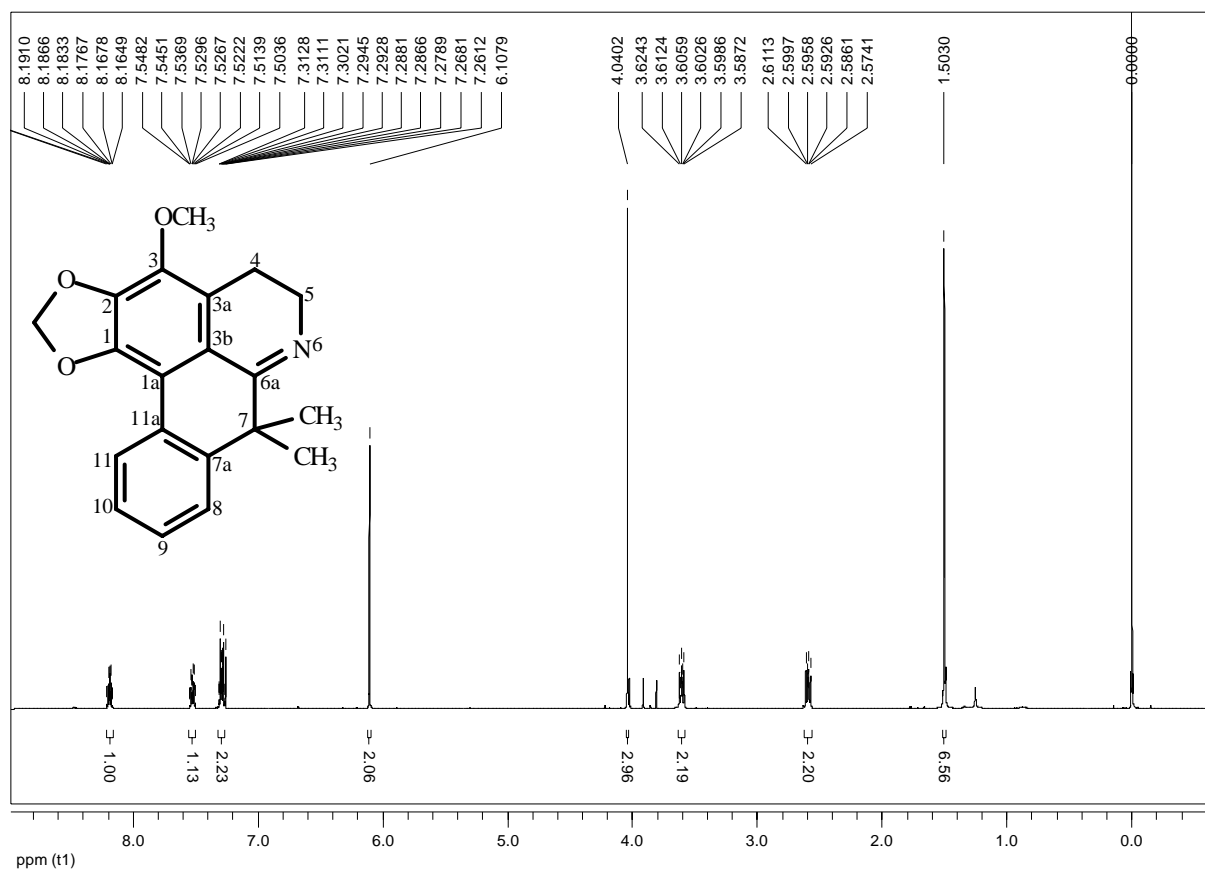
ESPECTROS



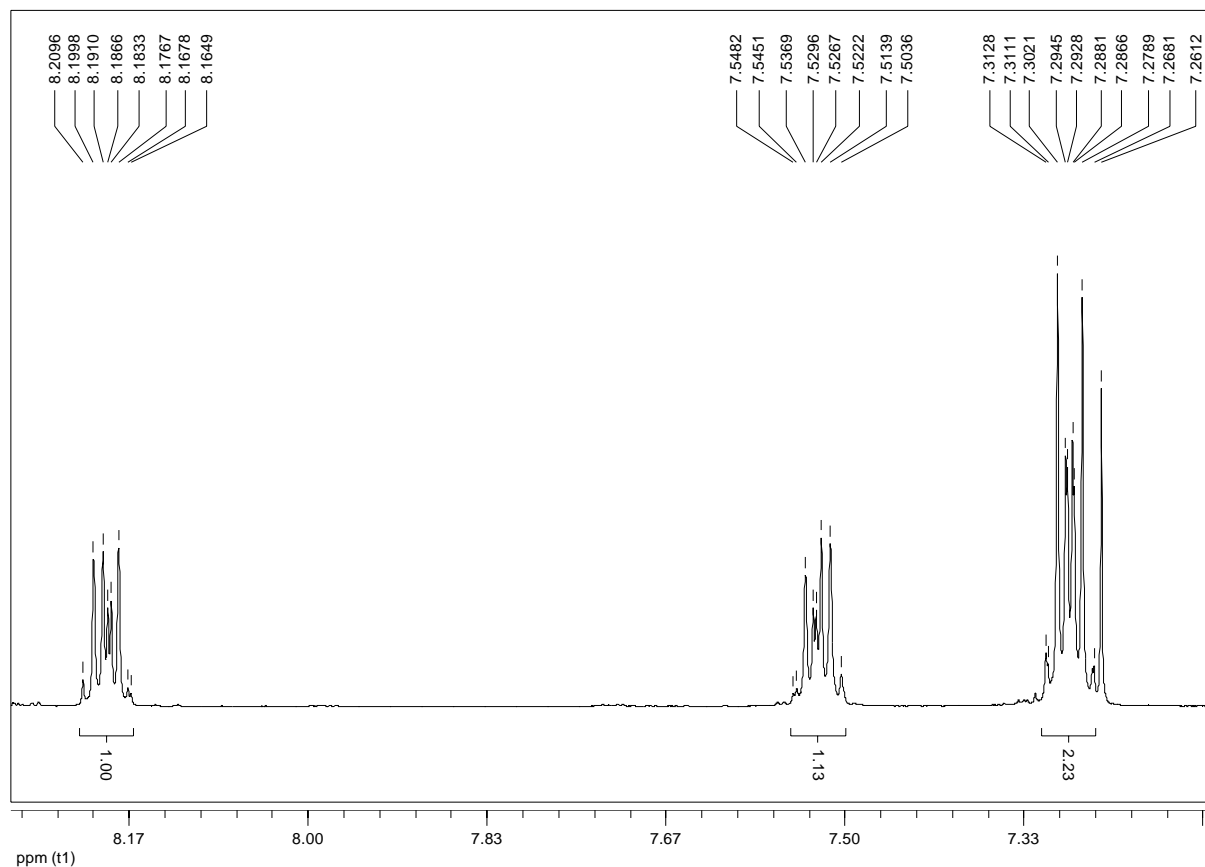
E1. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G14**.



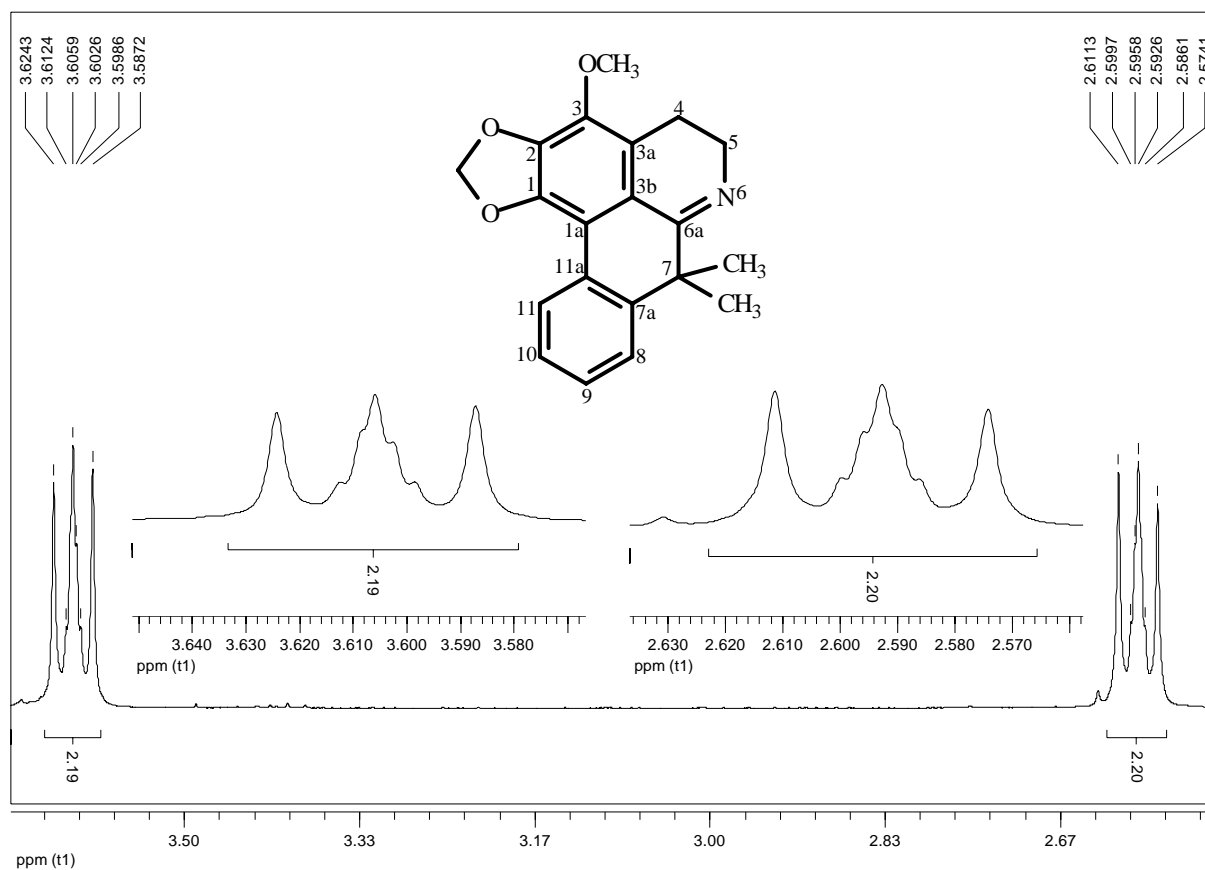
E2. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl_3) de **G14**.



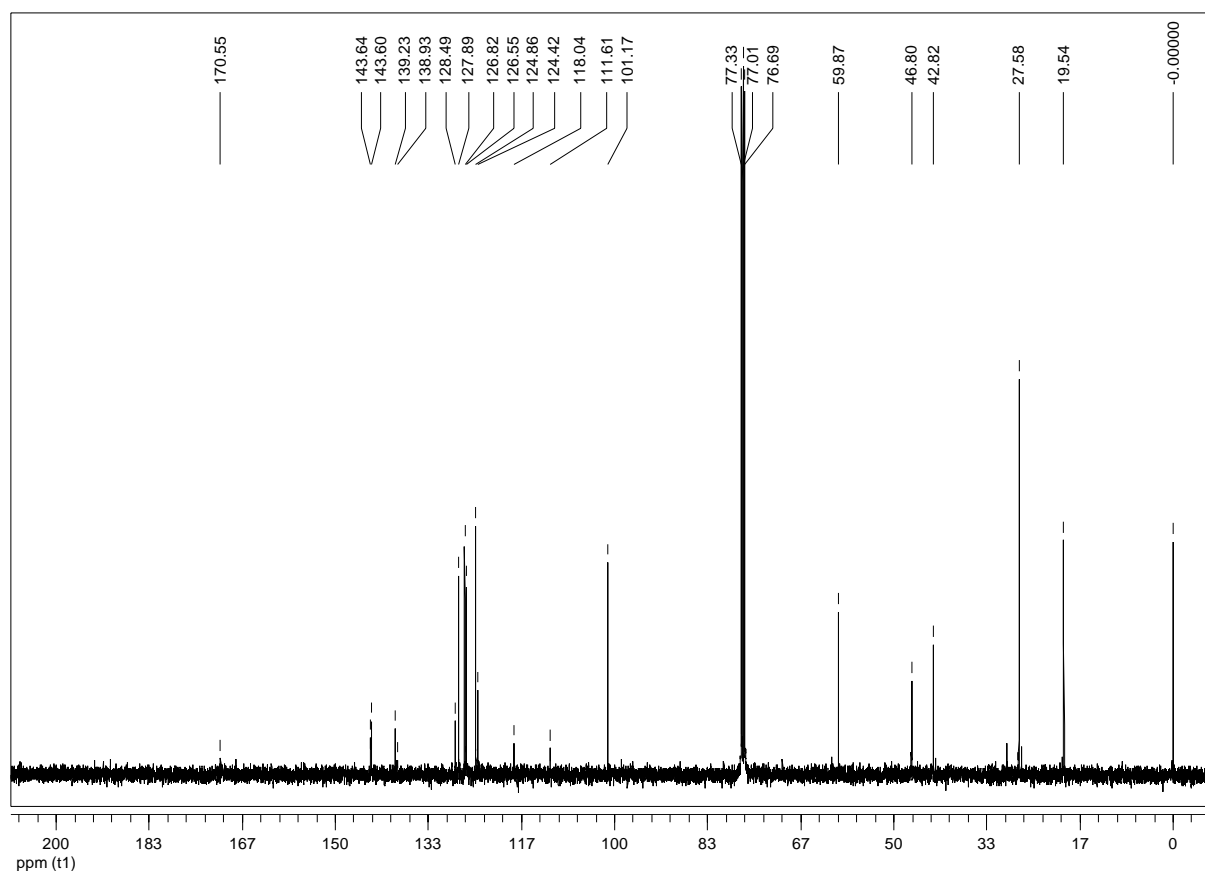
E3. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G14**.



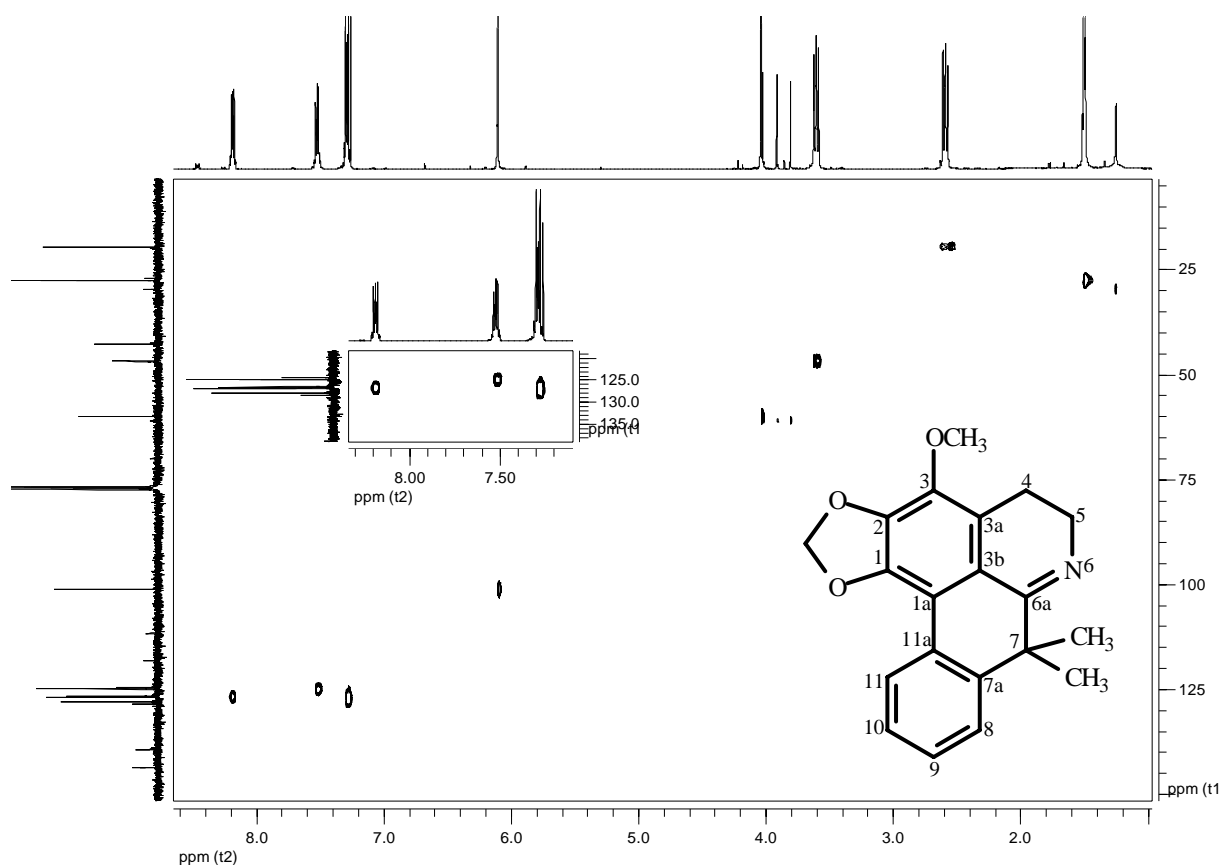
E4. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G14**.



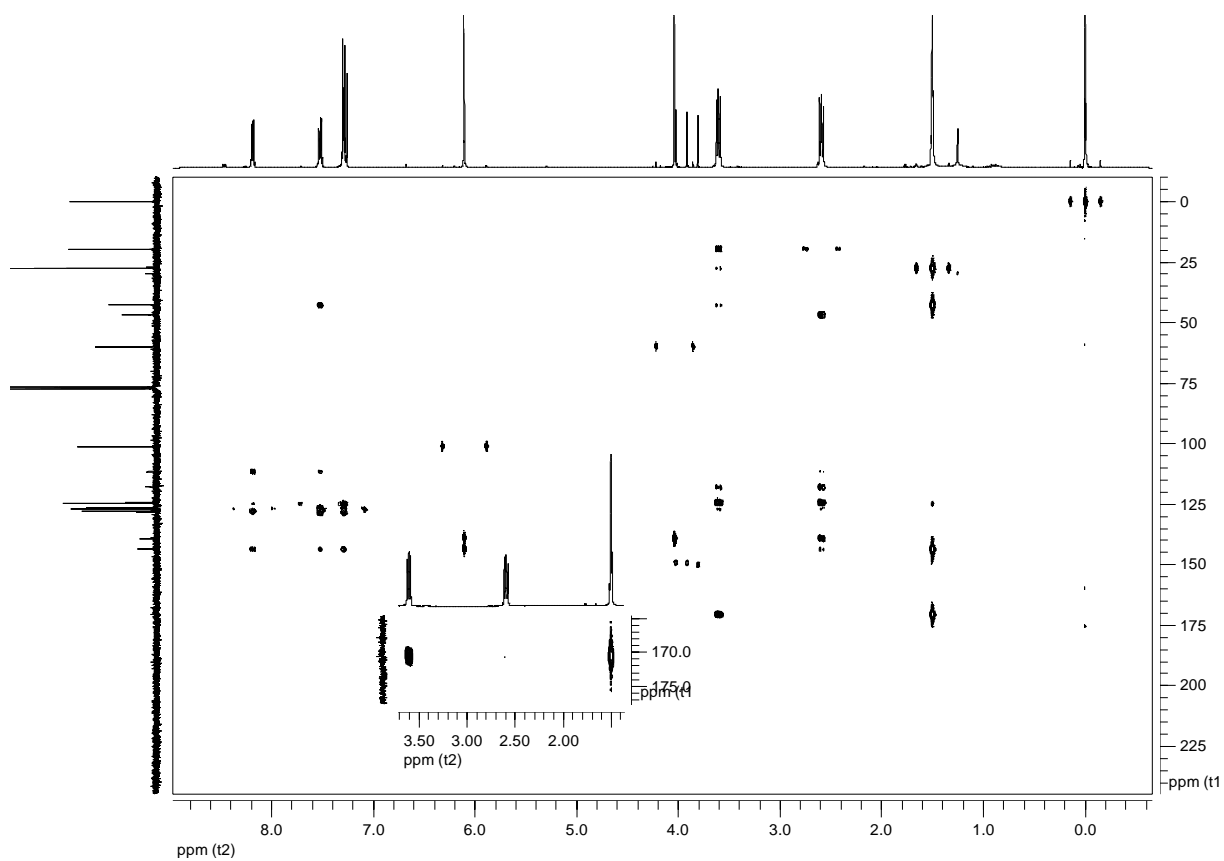
E5. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G14**.



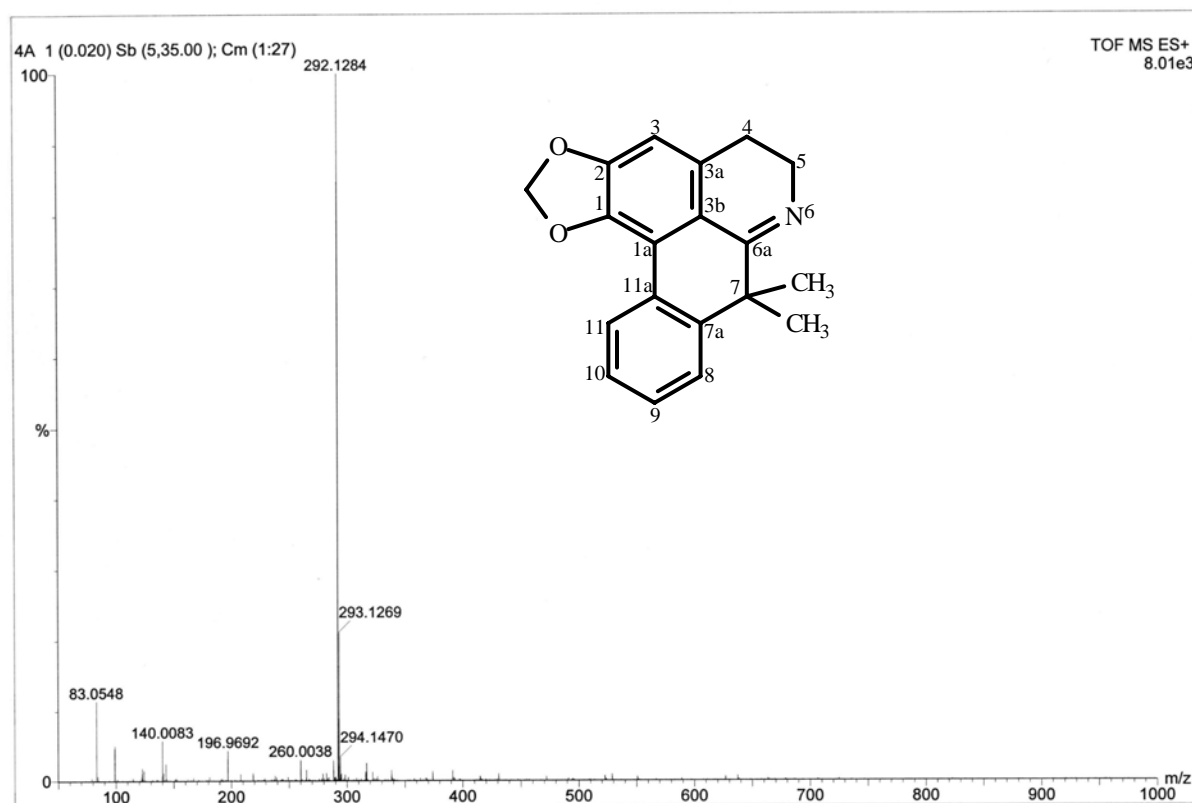
E6. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G14**.



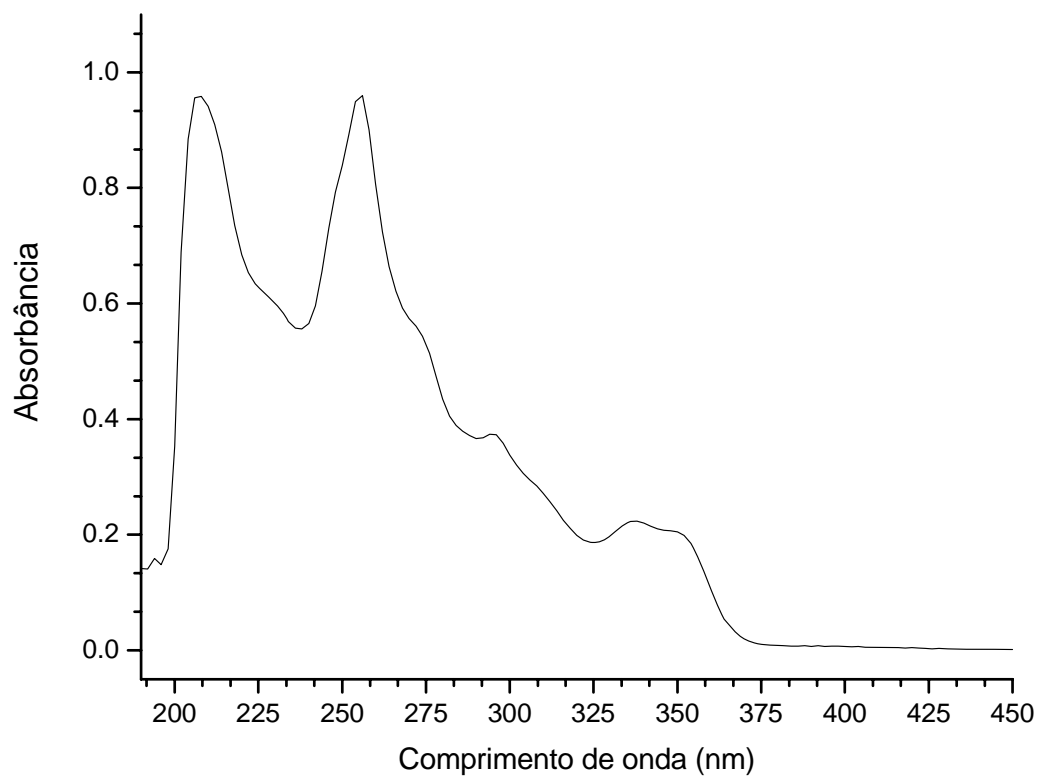
E7. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G14**.



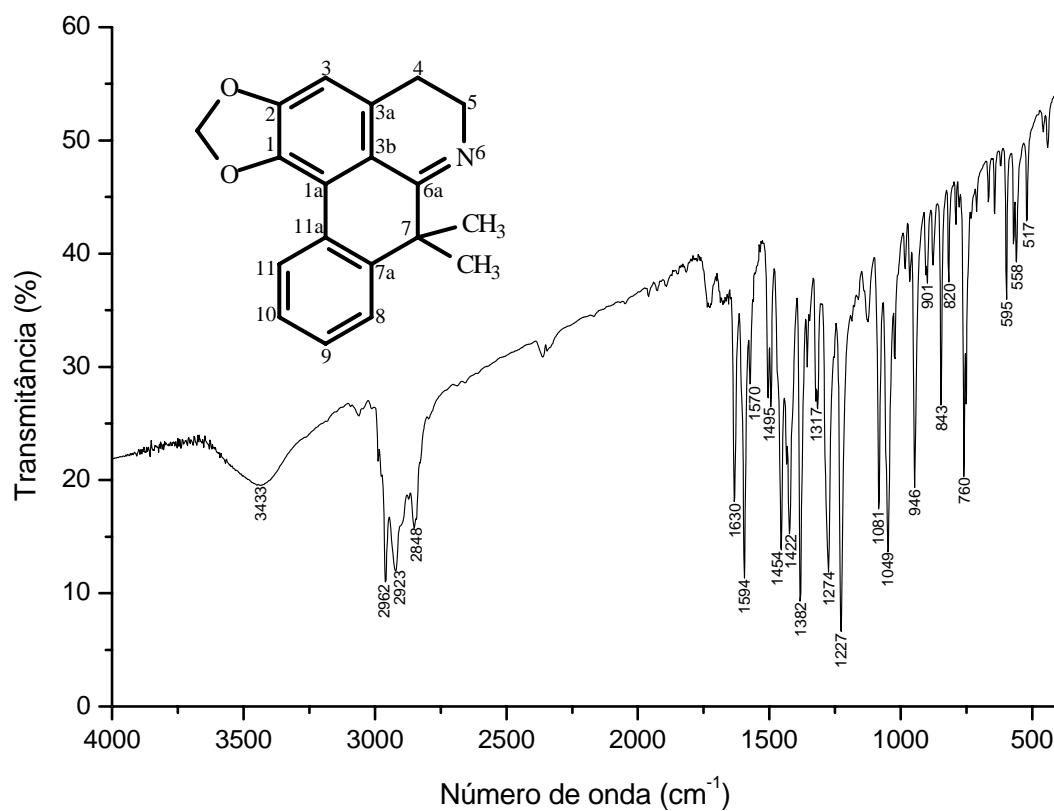
E8. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G14**.



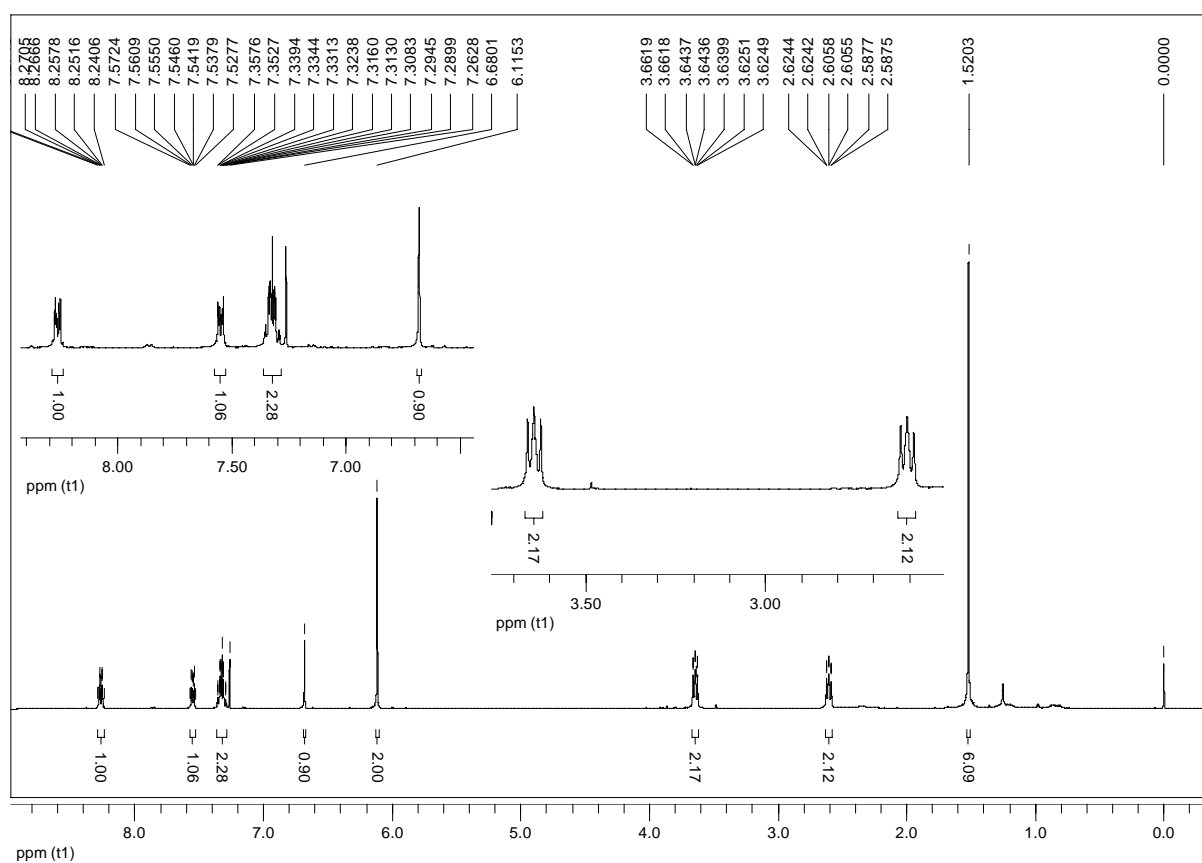
E9. Espectro de massas de alta resolução de **G15** (HRESIMS+).



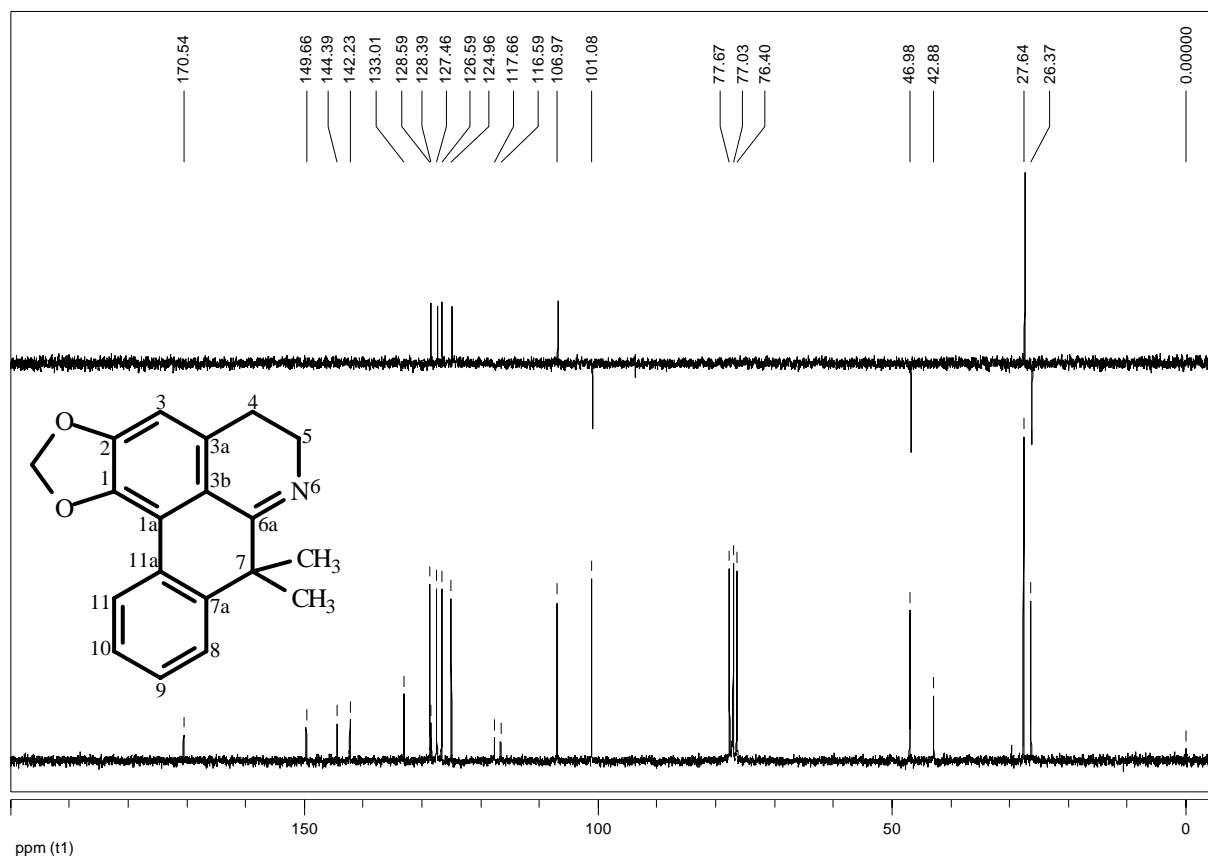
E10. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G15**.



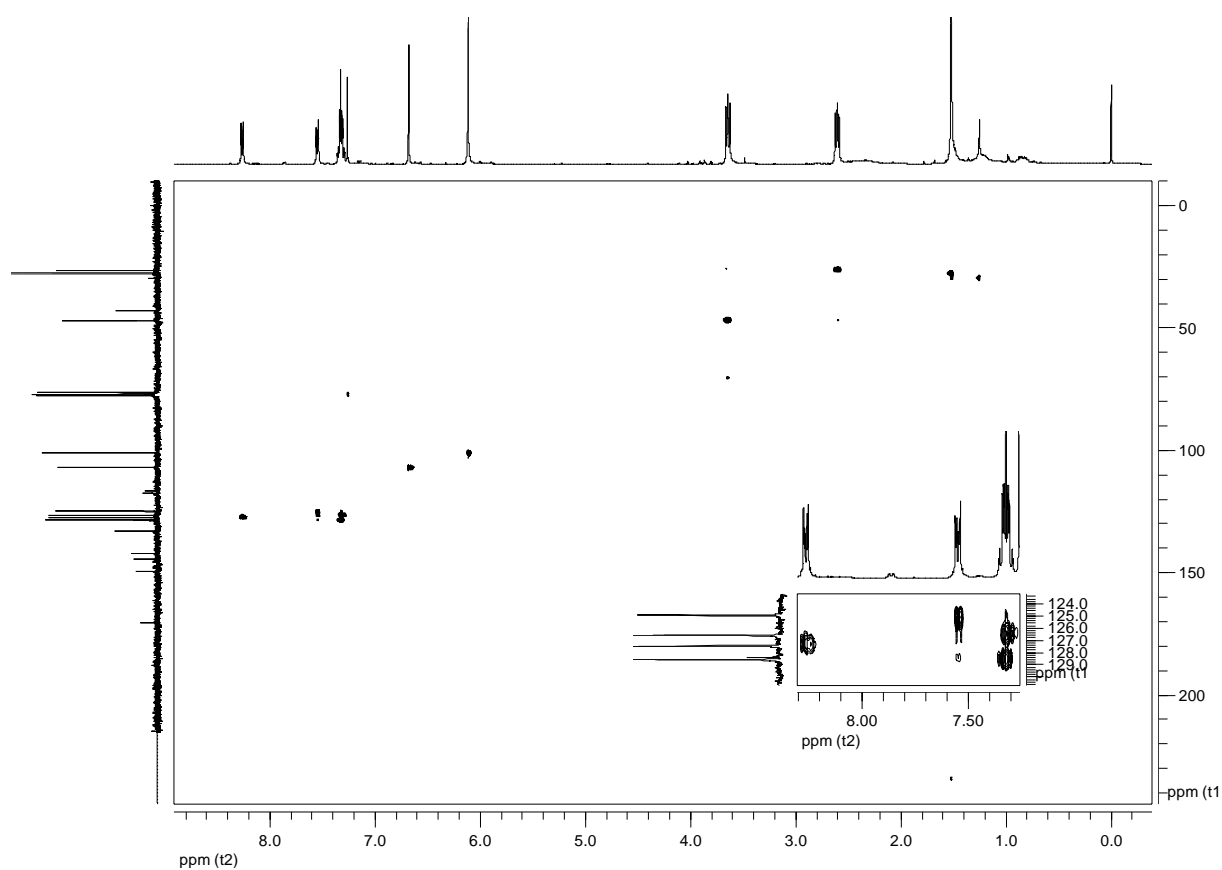
E11. Espectro de absorção na região do IV (KBR) de **G15**.



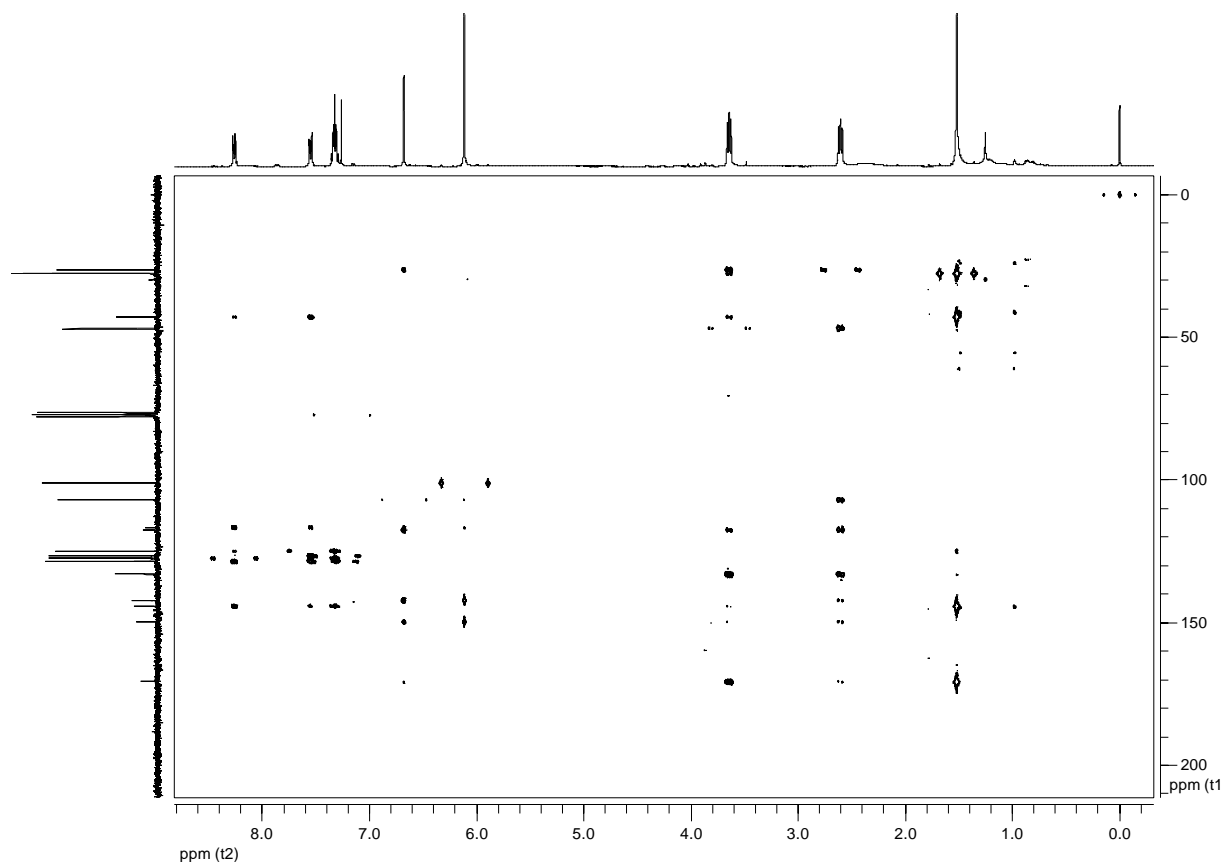
E12. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G15**.



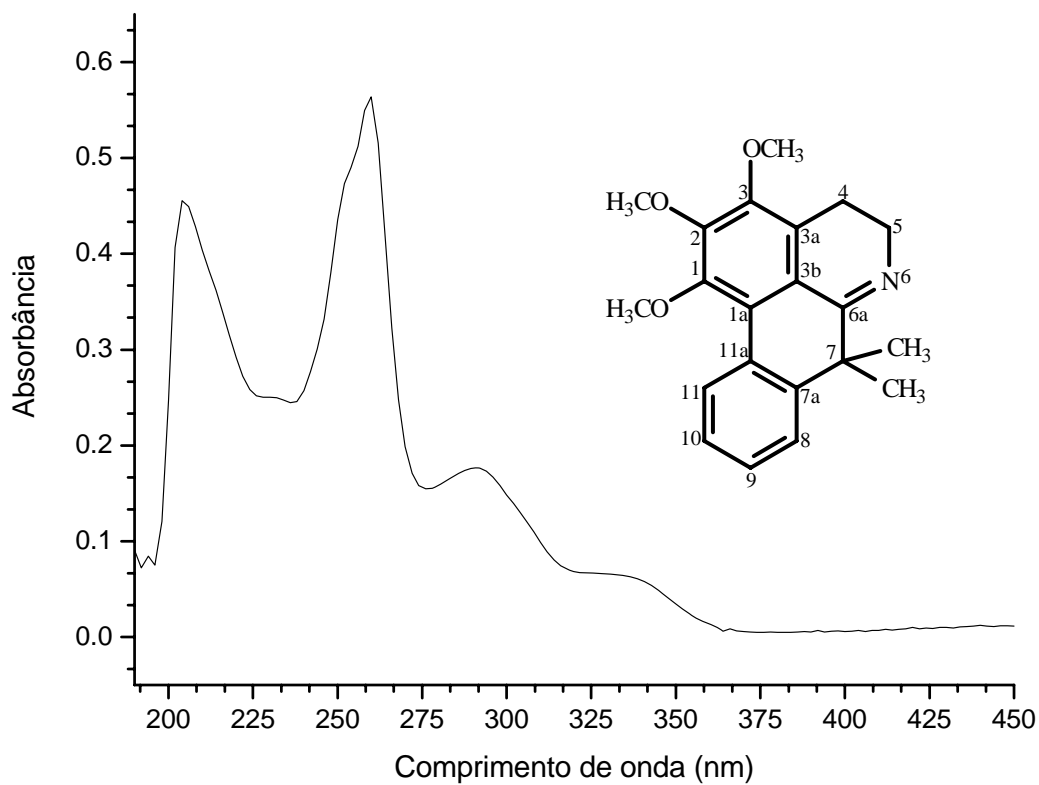
E13. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) de **G15**.



E14. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G15**.



E15. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G15**.



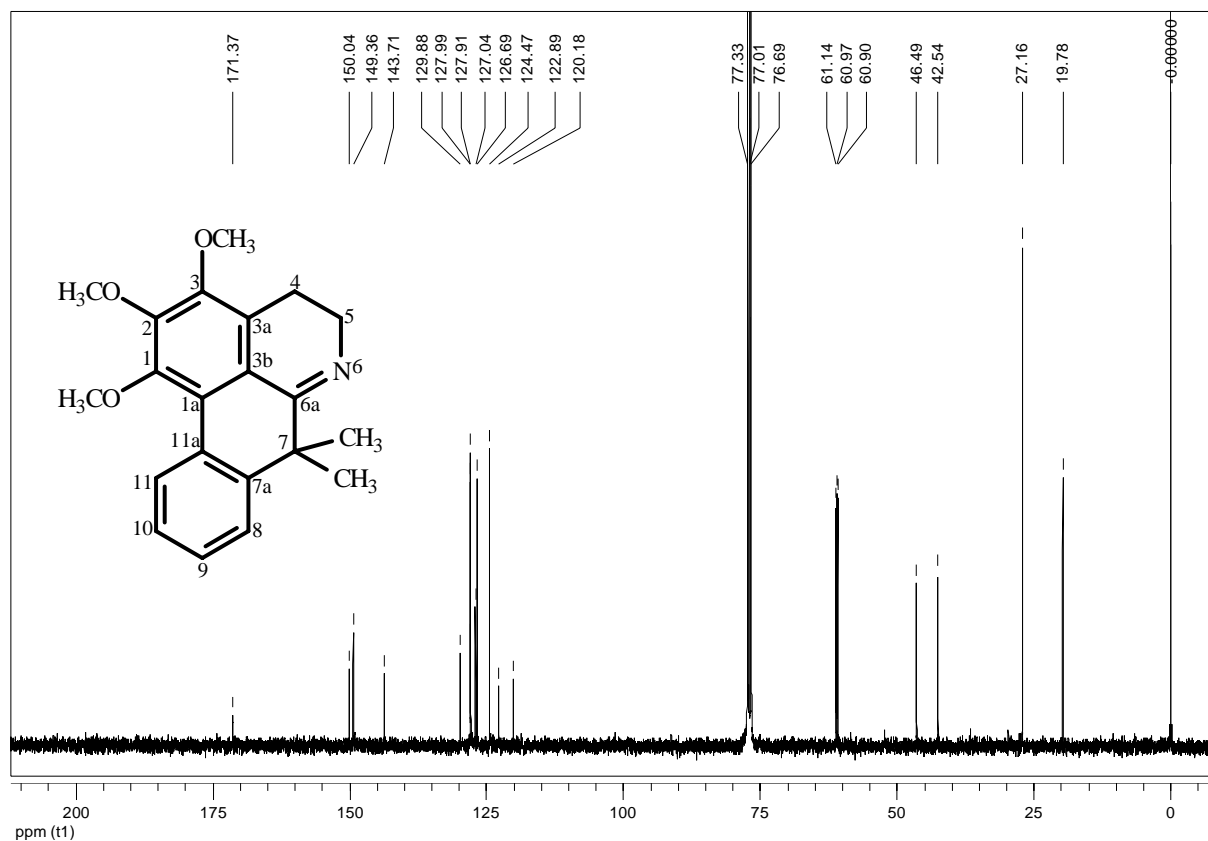
E16. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G16**.

Chemical Structure: 1,3-dimethoxy-7,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-benzodiazepine. The structure is a benzodiazepine derivative with a benzene ring fused to a seven-membered ring containing a nitrogen atom. The benzene ring has methoxy groups at positions 1 and 3, and gem-dimethyl groups at position 7. The seven-membered ring is partially saturated. Protons are numbered 1 through 11, and positions 1a through 7a are also indicated.

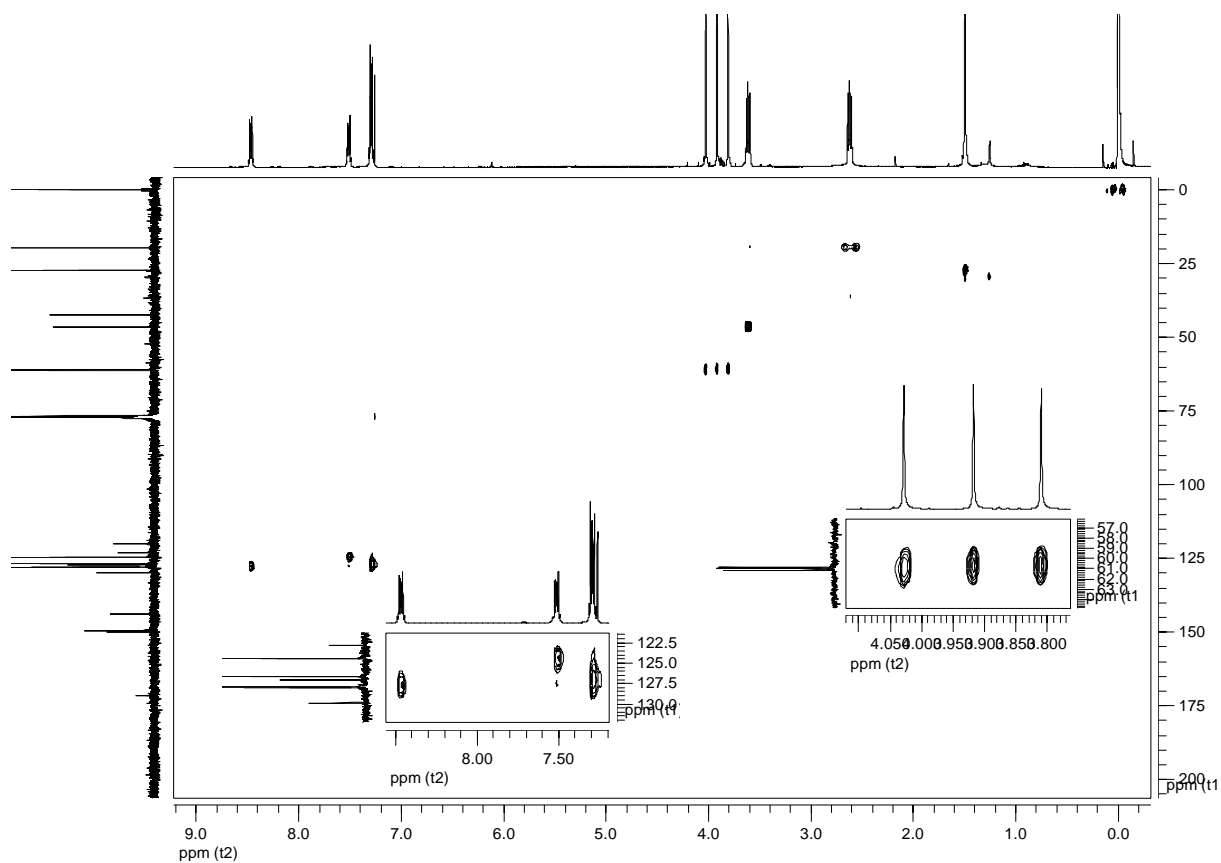
¹H NMR Spectrum (CDCl₃):

Chemical Shift (ppm)	Integration
7.2617, 7.2717, 7.2814, 7.2900, 7.2963, 7.3048, 7.3145, 7.4921, 7.5018, 7.5104, 7.5165, 7.5250, 7.5346, 8.4454, 8.4551, 8.4639, 8.4700, 8.4786, 8.4883	1.00, 2.07, 2.08
4.0281, 3.9175, 3.8100, 3.6307, 3.6128, 3.5945	2.96, 2.00, 2.08
2.6393, 2.6210, 2.6031	5.98
1.4977	5.98
0.0000	-

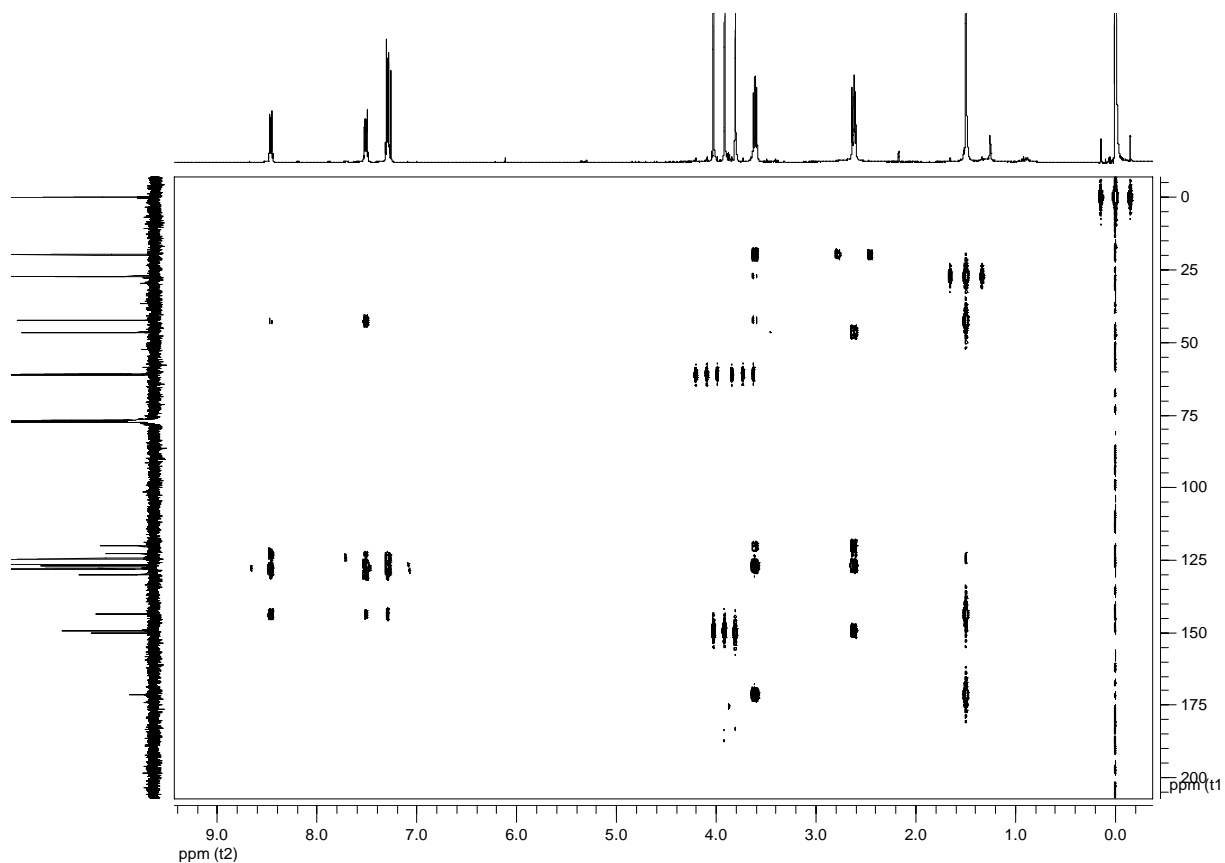
E18. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G16**.



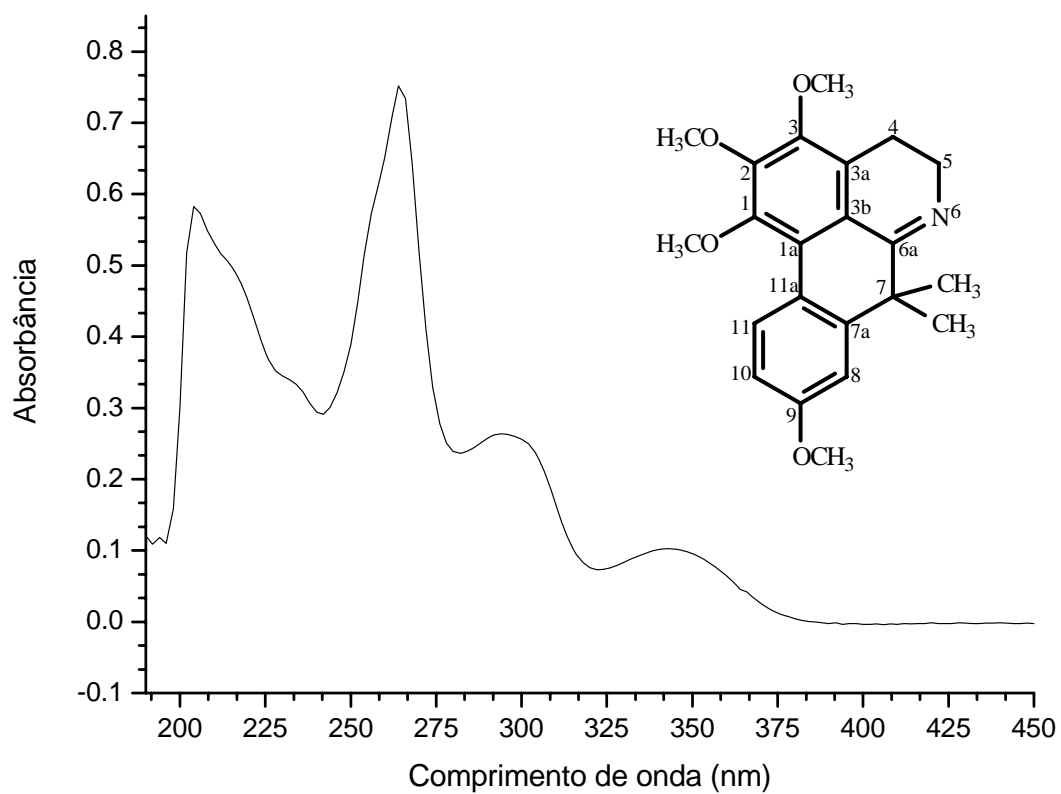
E19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de G16.



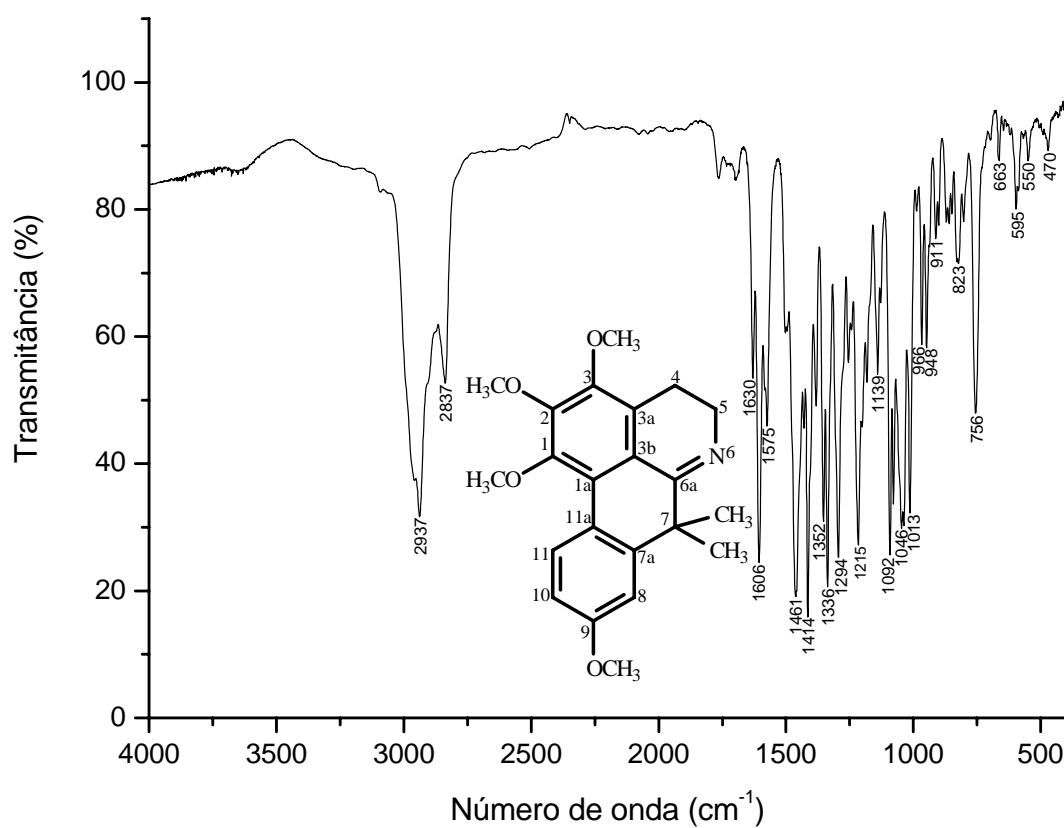
E20. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G16.



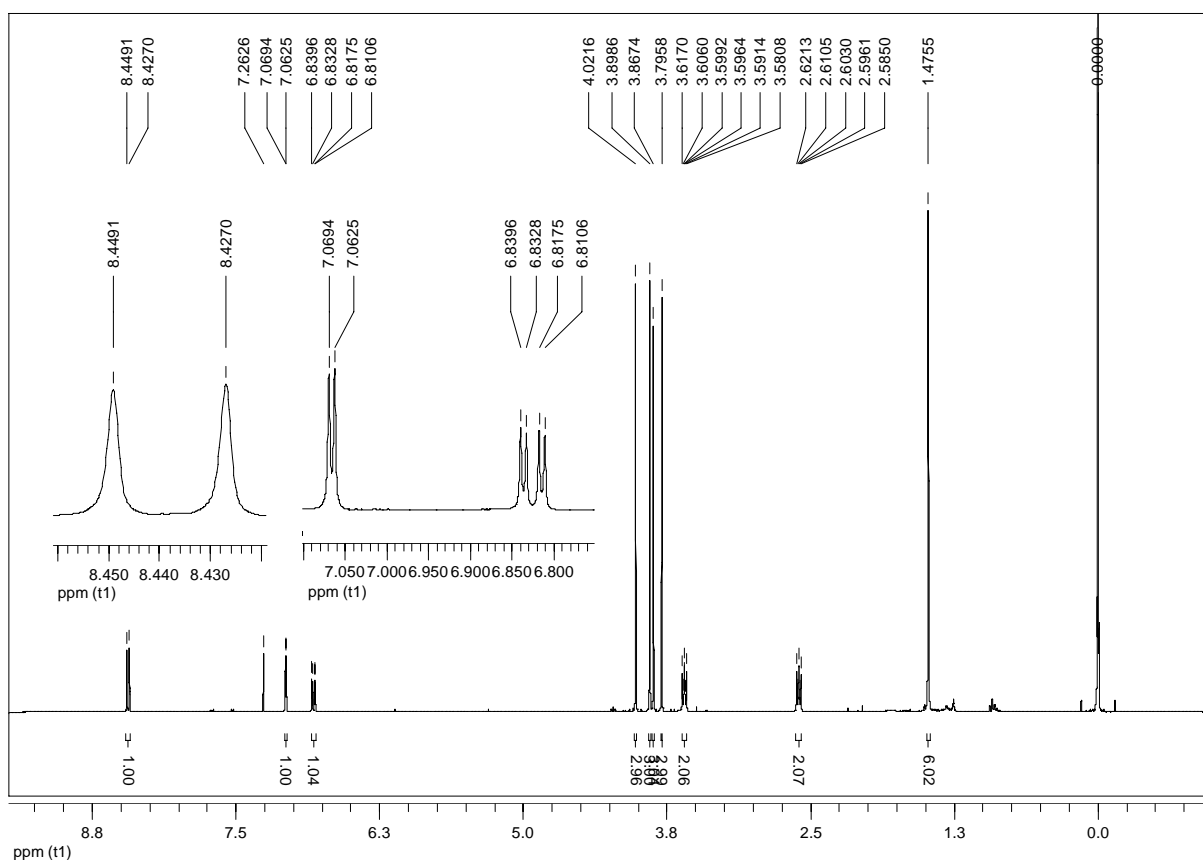
E21. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G16**.



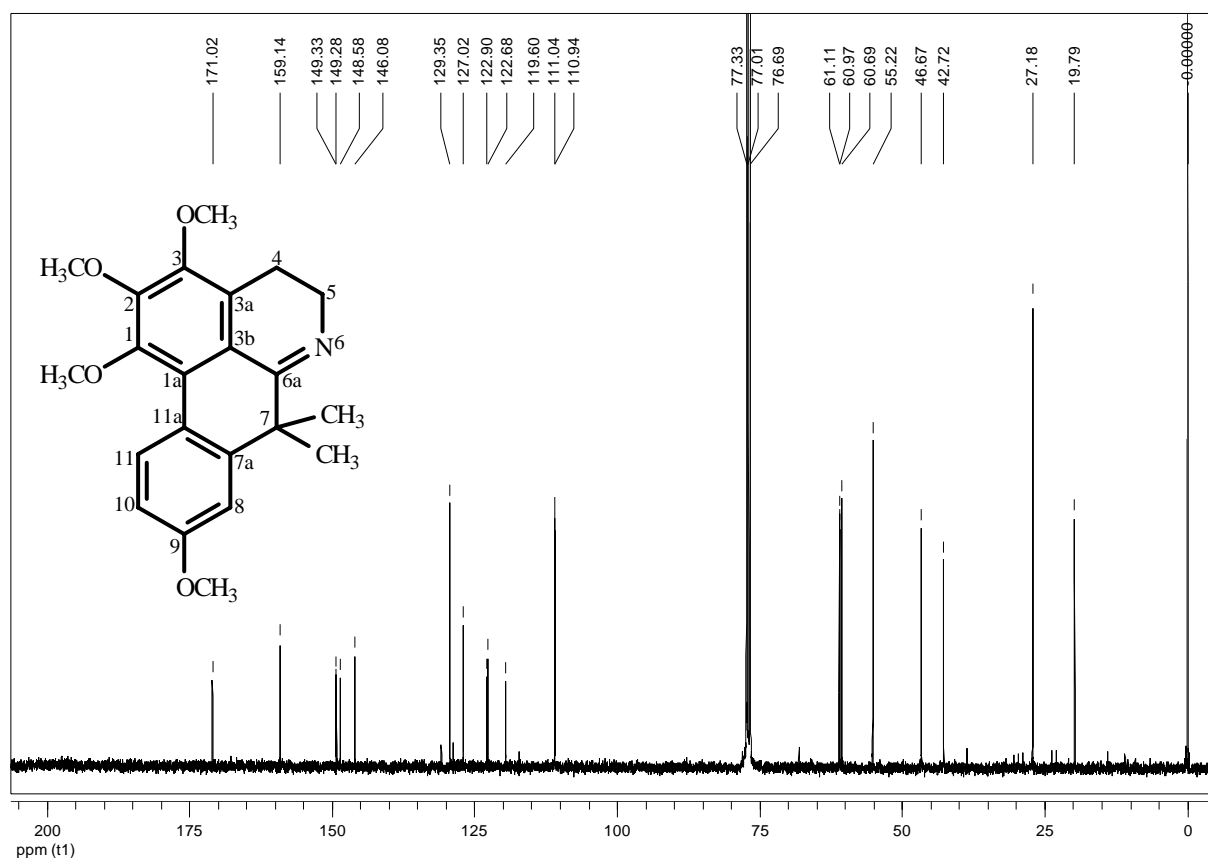
E22. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G17**.



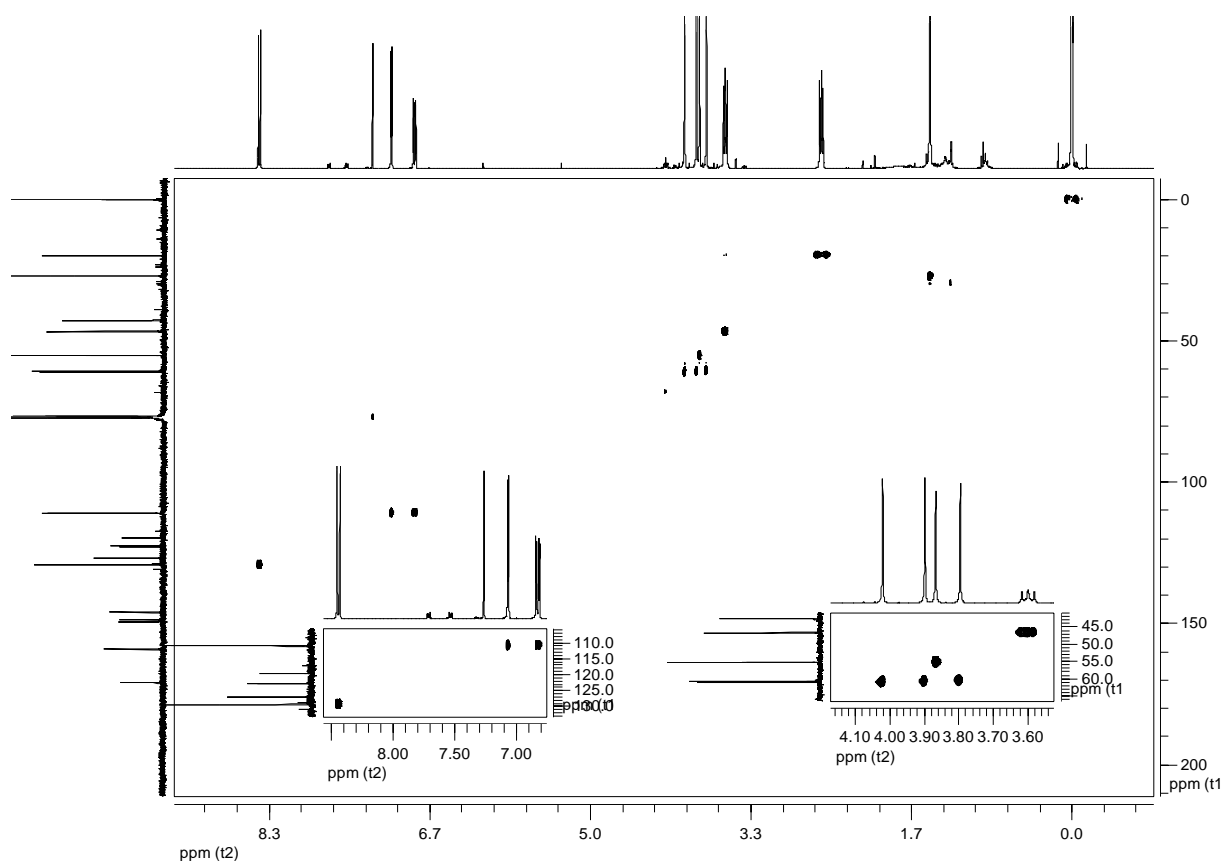
E23. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl_3) de **G17**.



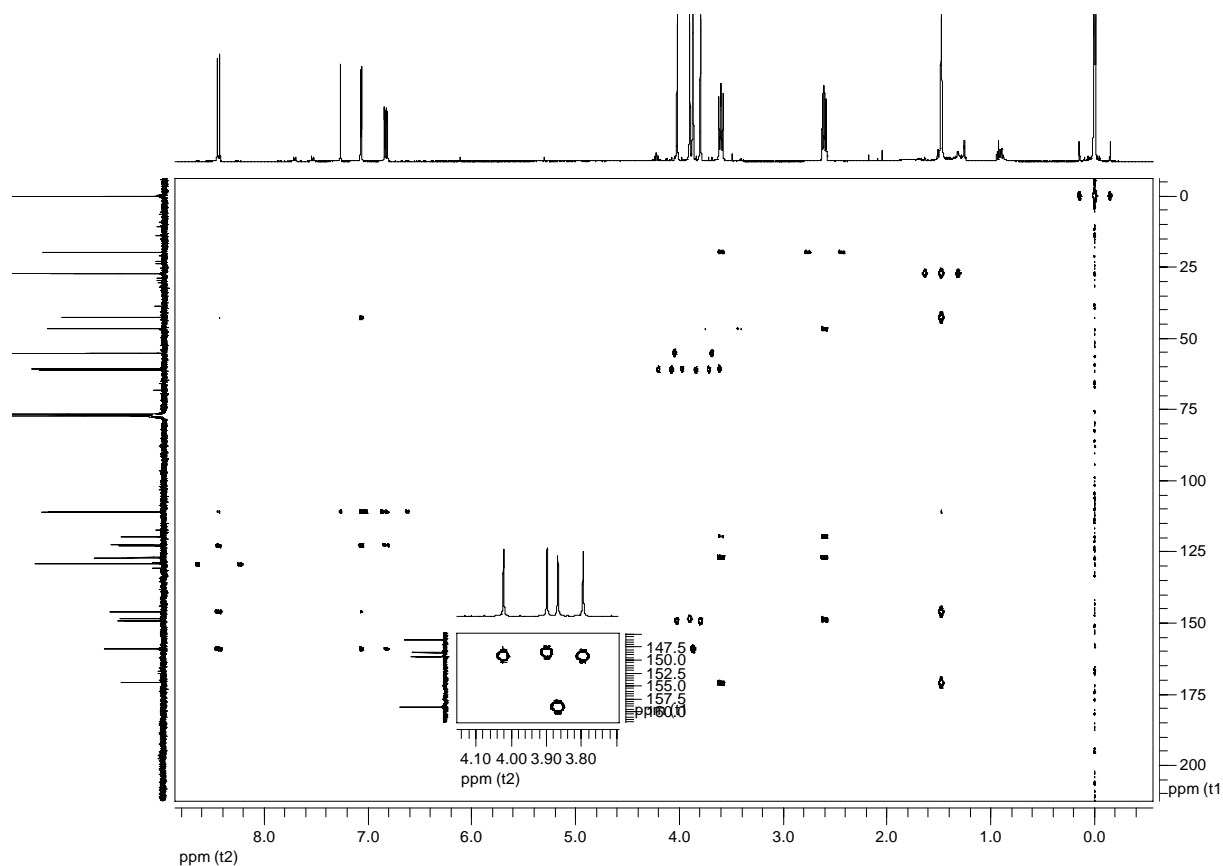
E24. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G17**.



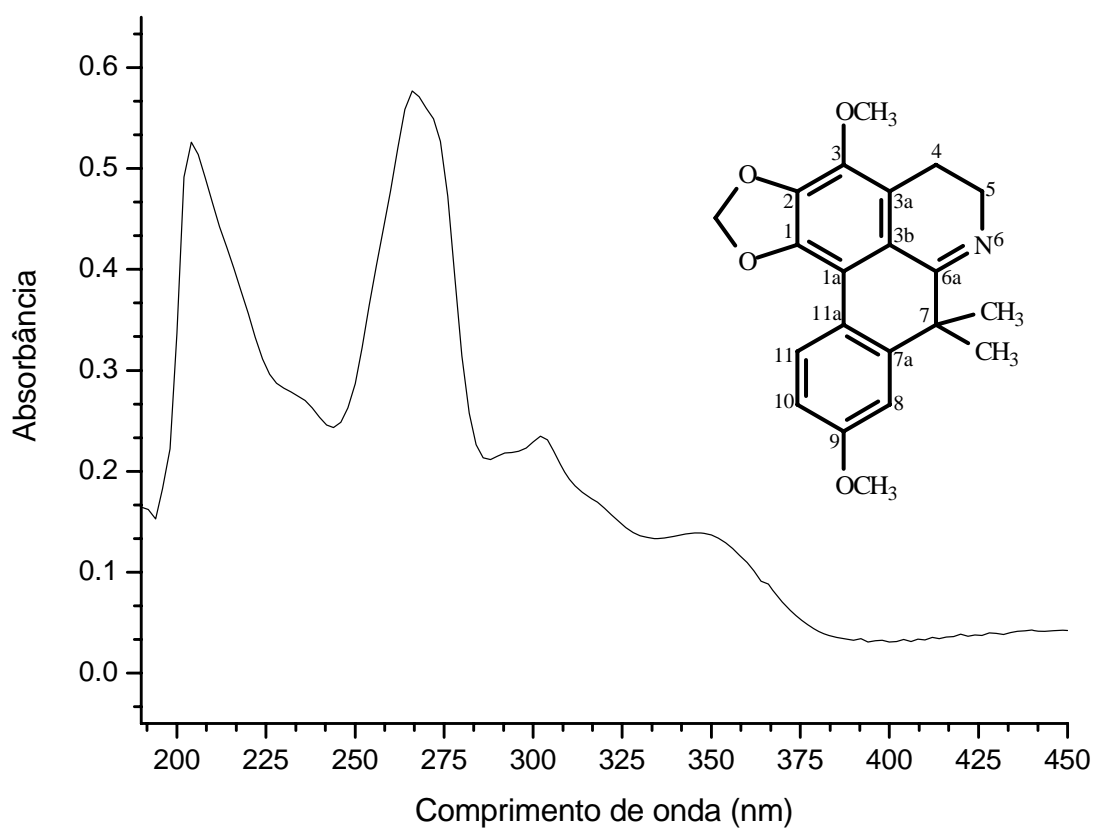
E25. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de **G17**.



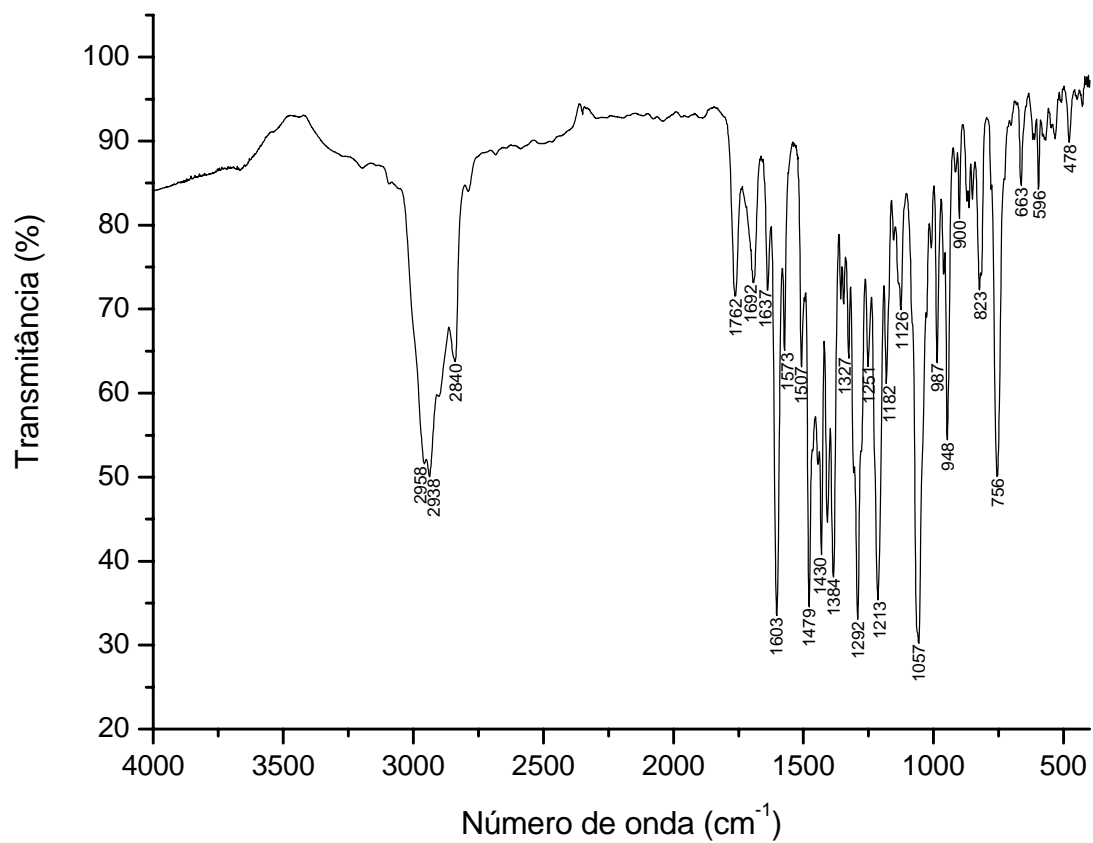
E26. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G17**.



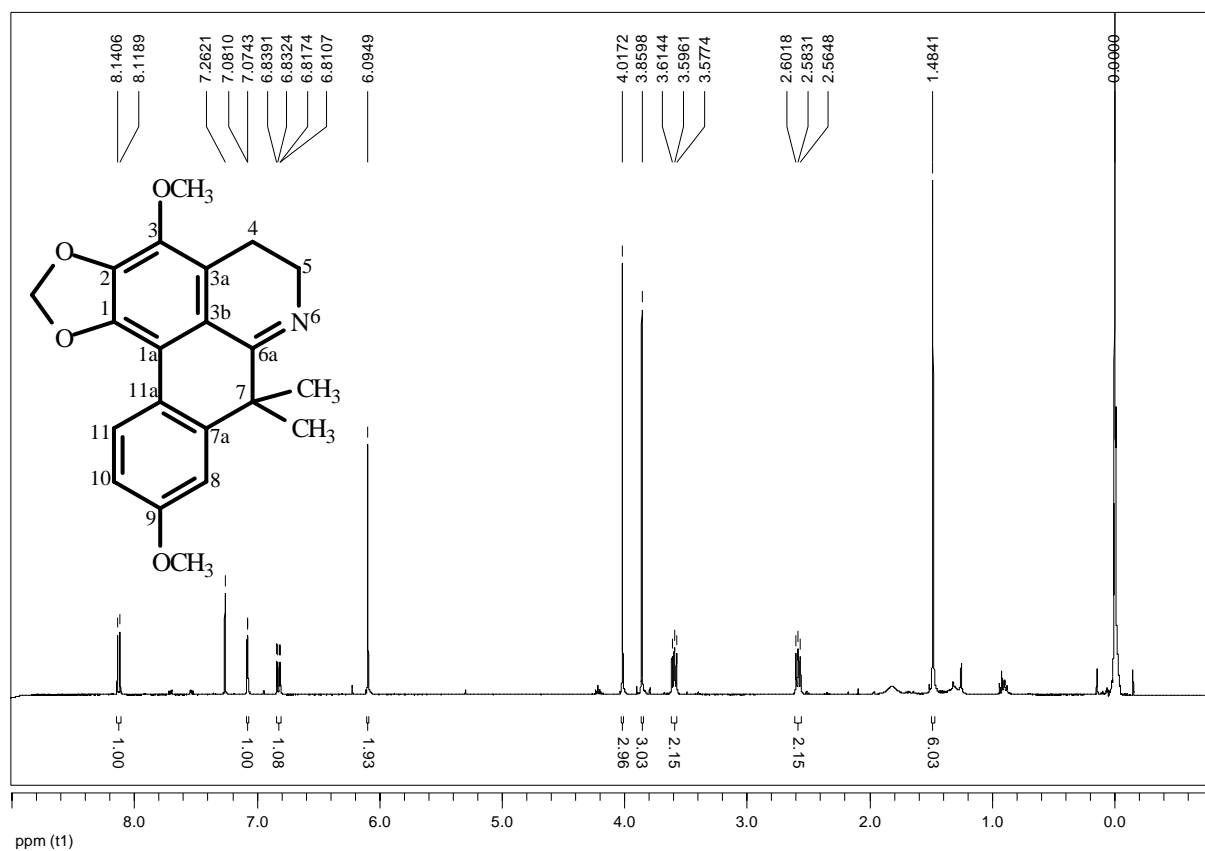
E27. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G17**.



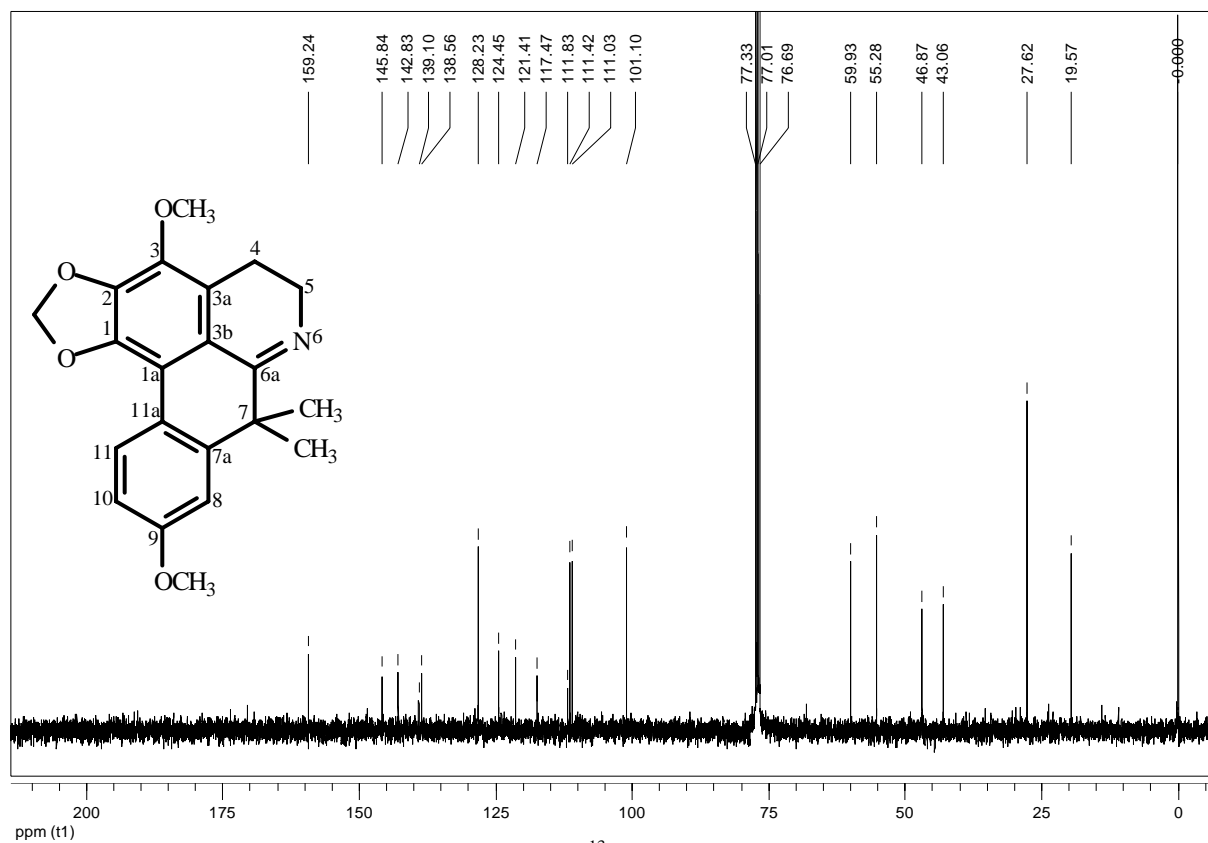
E28. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G18**.



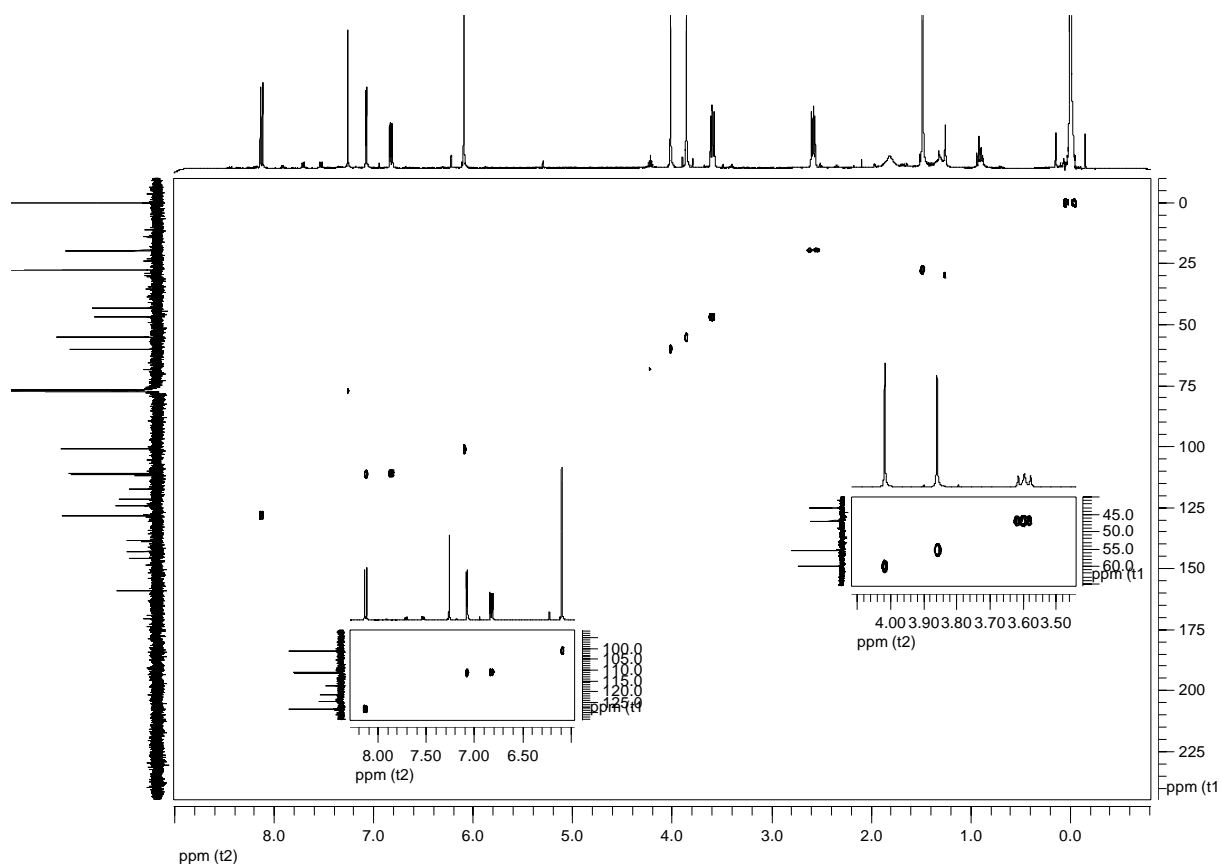
E29. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl₃) de **G18**.



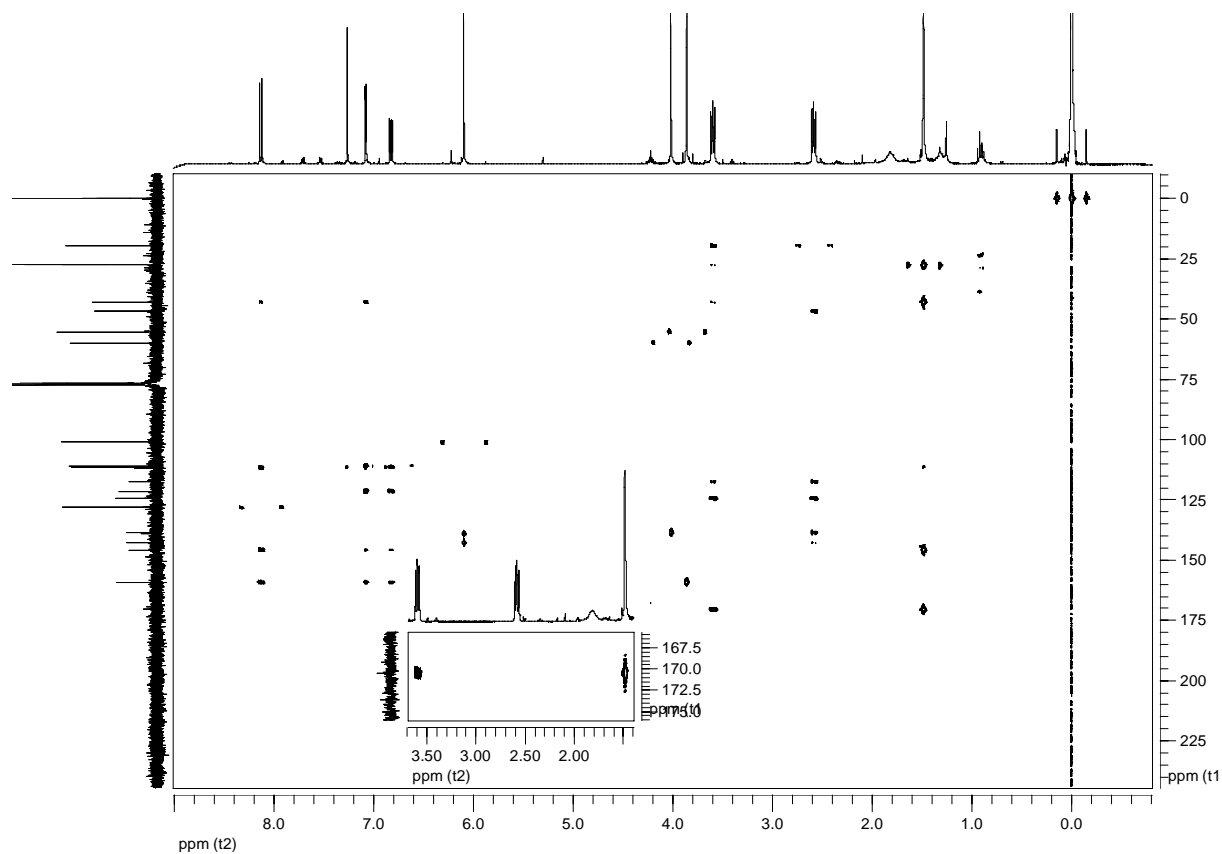
E30. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G18**.



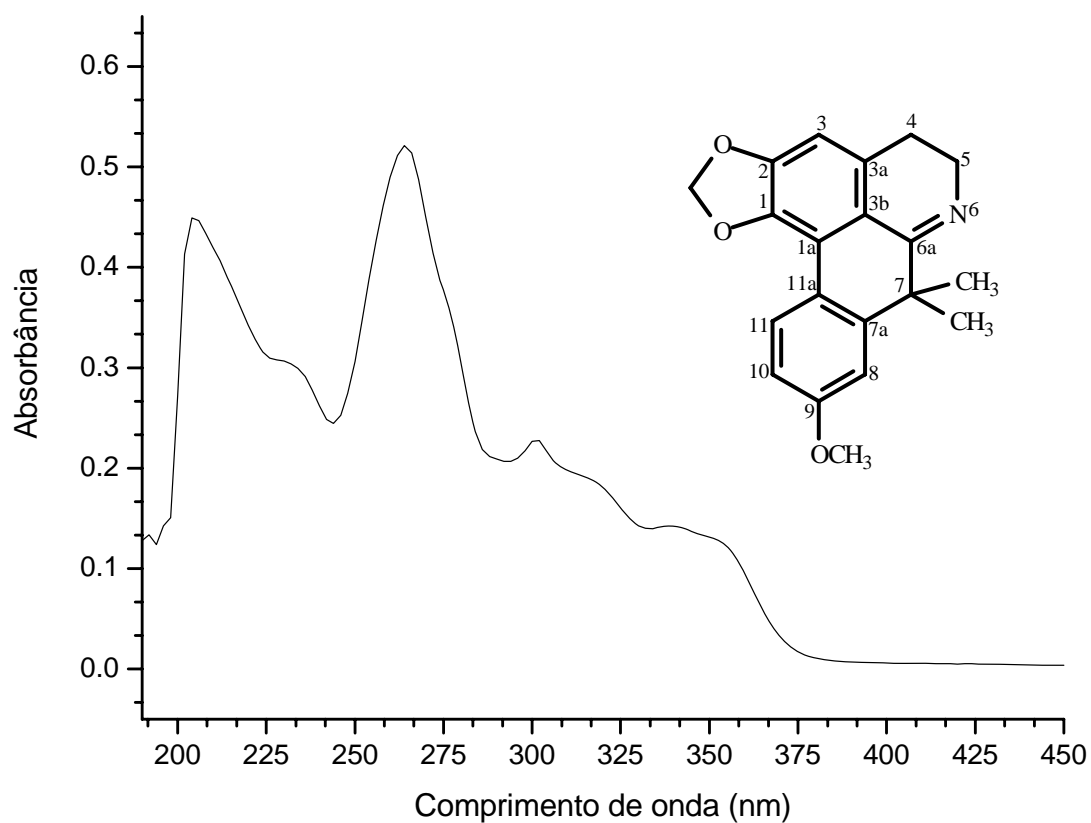
E31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G18**.



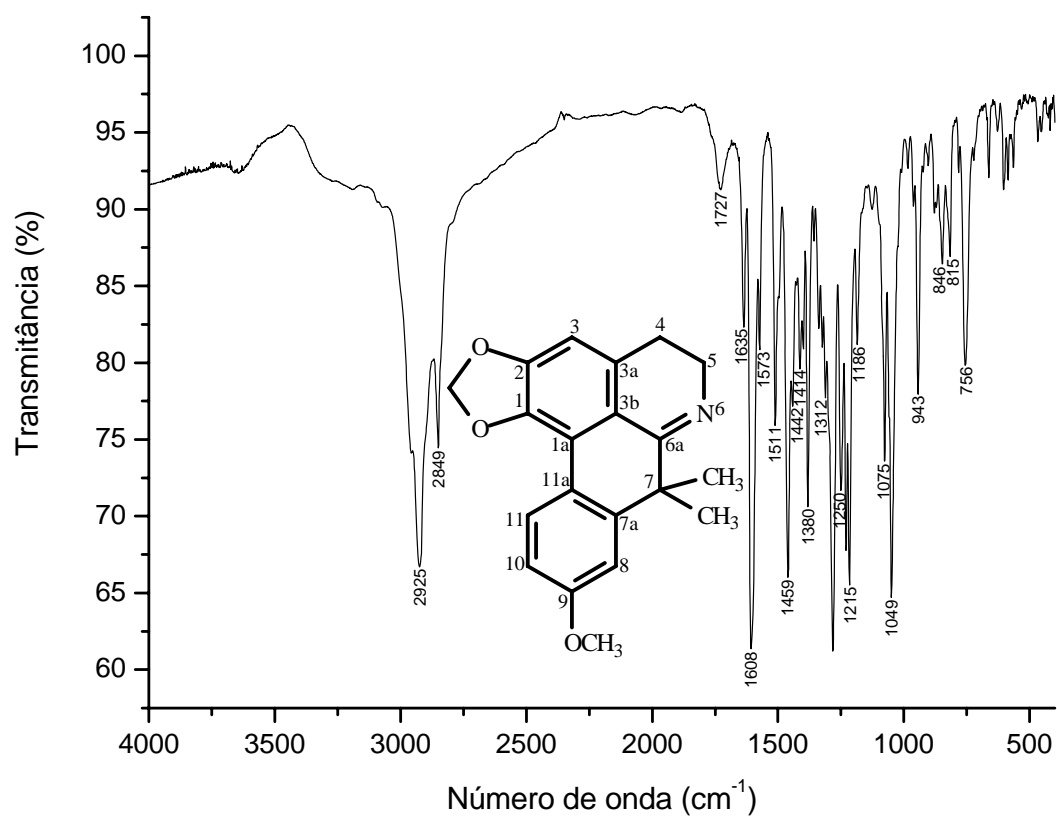
E32. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G18**.



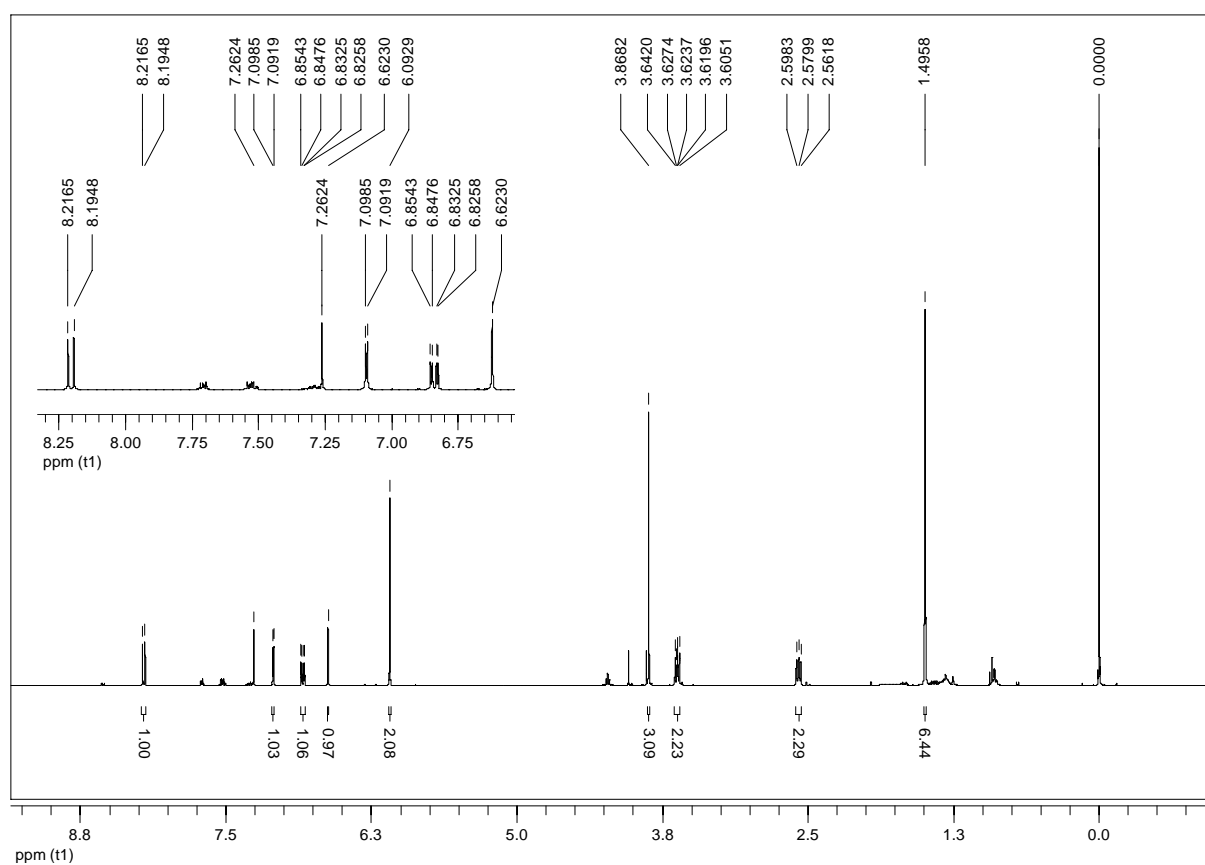
E33. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G18**.



E34. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G19**.

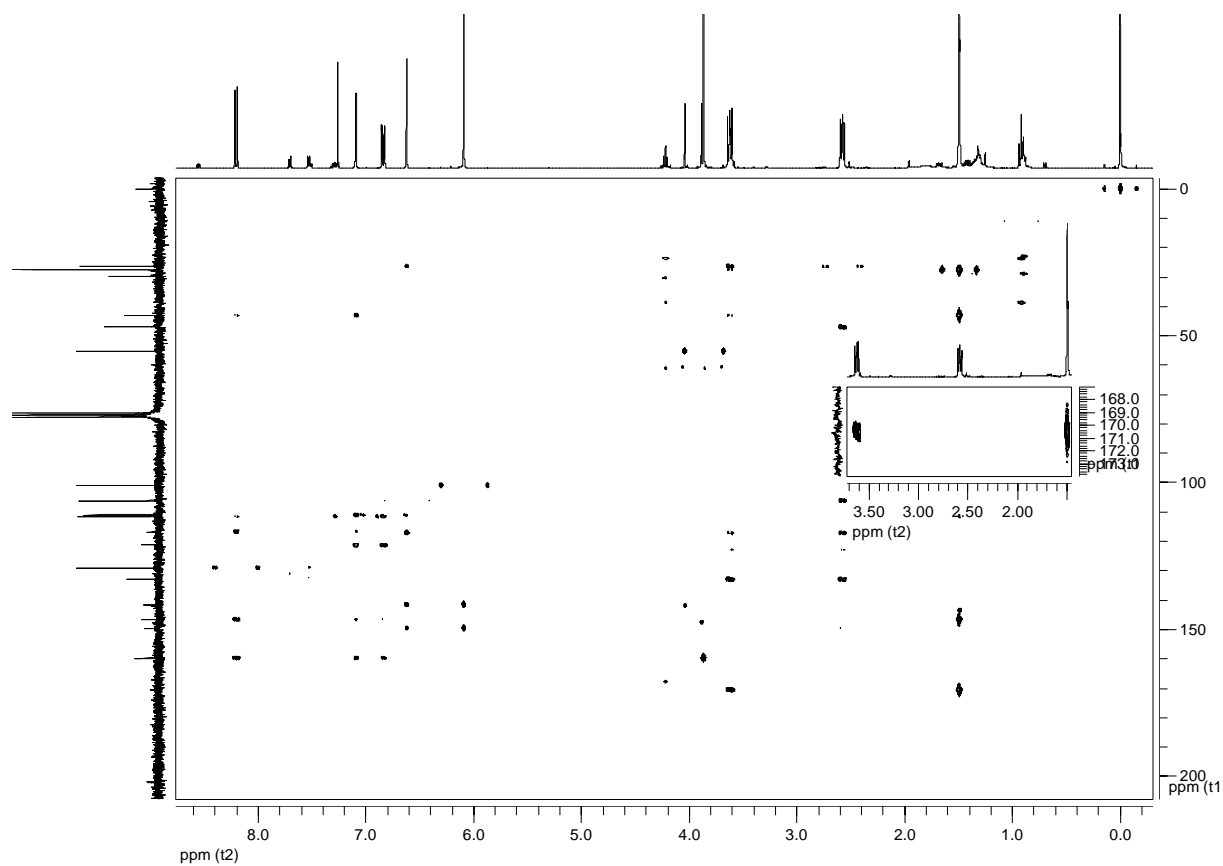


E35. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl_3) de **G19**.

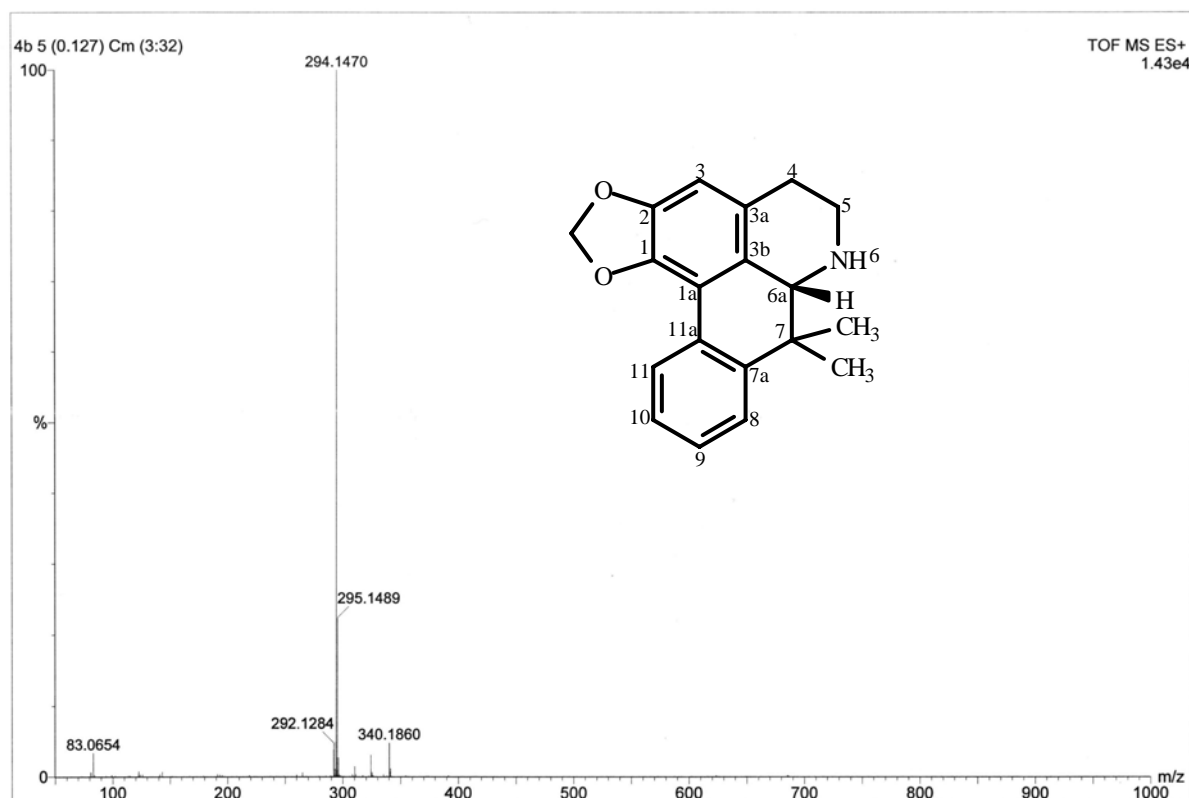


E36. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G19**.

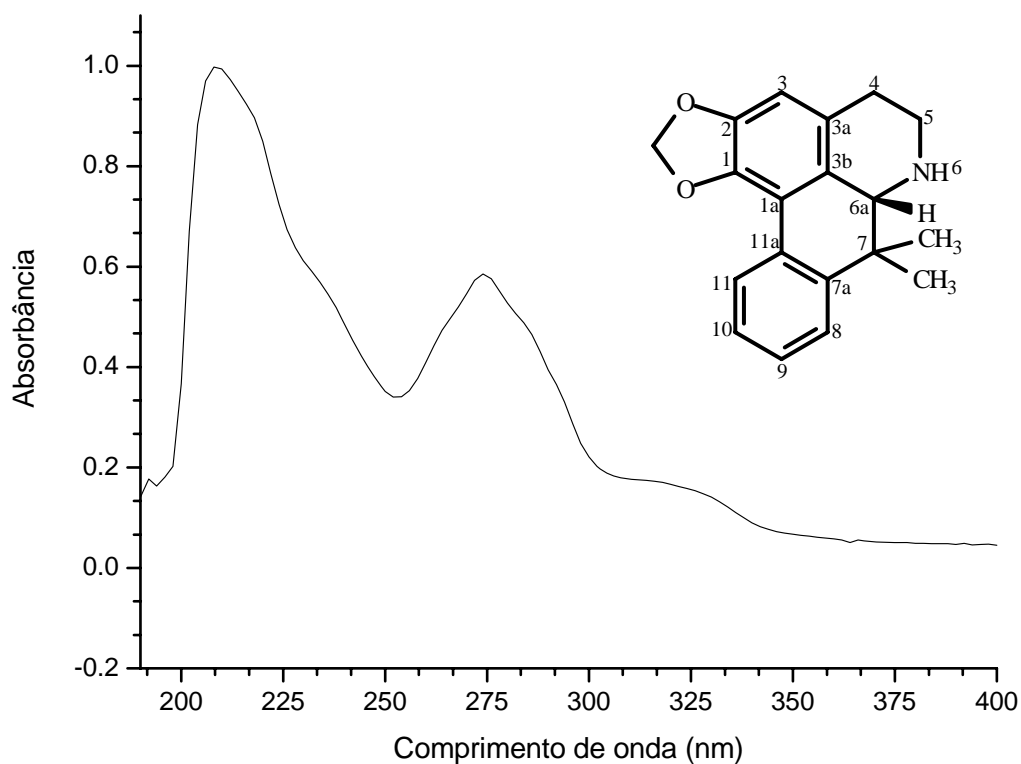
E38. Mapa de contorno g HSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G19**.



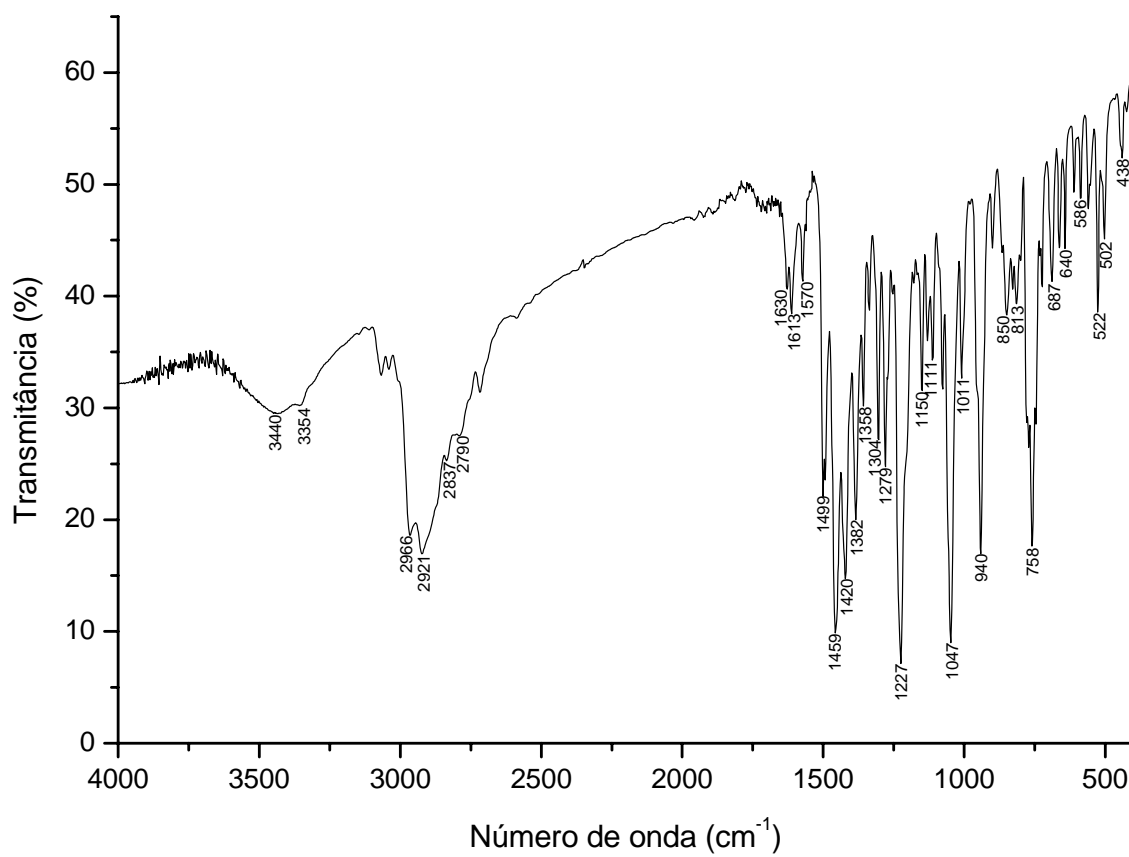
E39. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G19**.



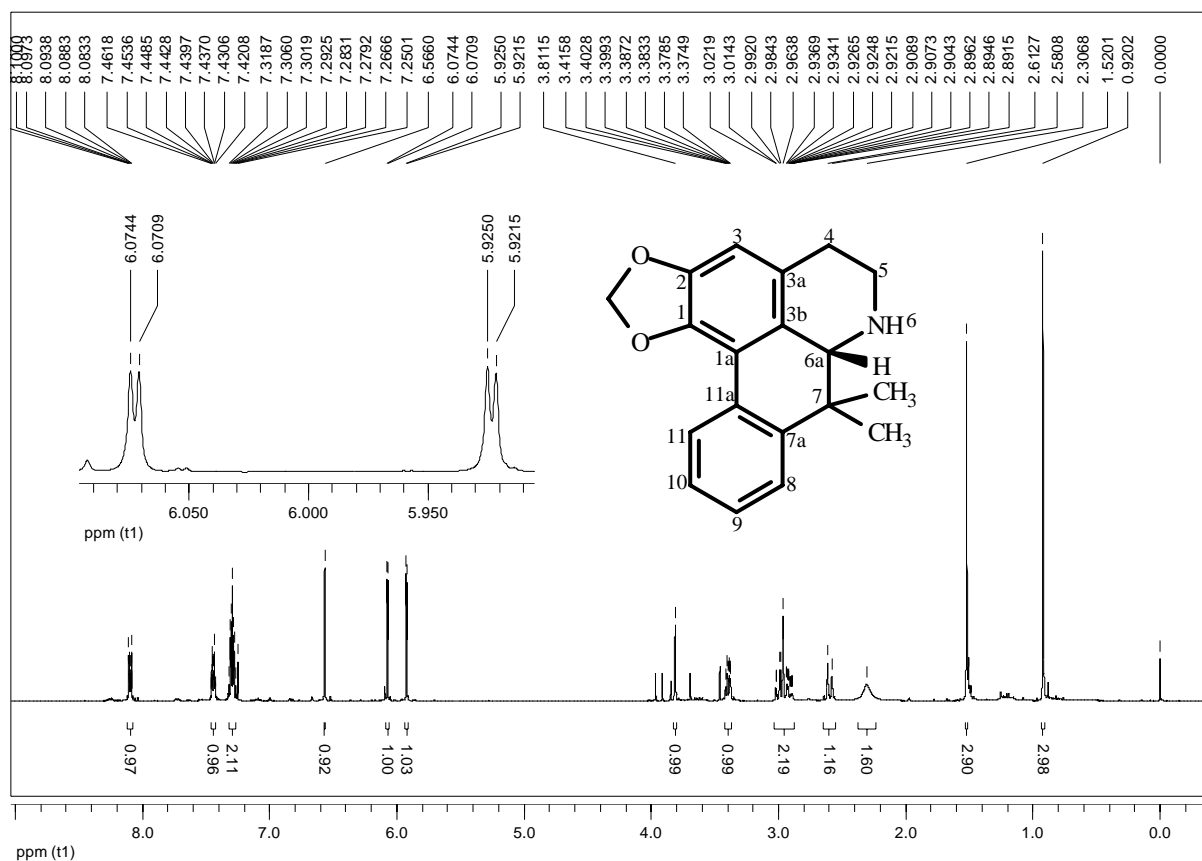
E40. Espectro de massas de alta resolução de **G20** (HRESIMS+).



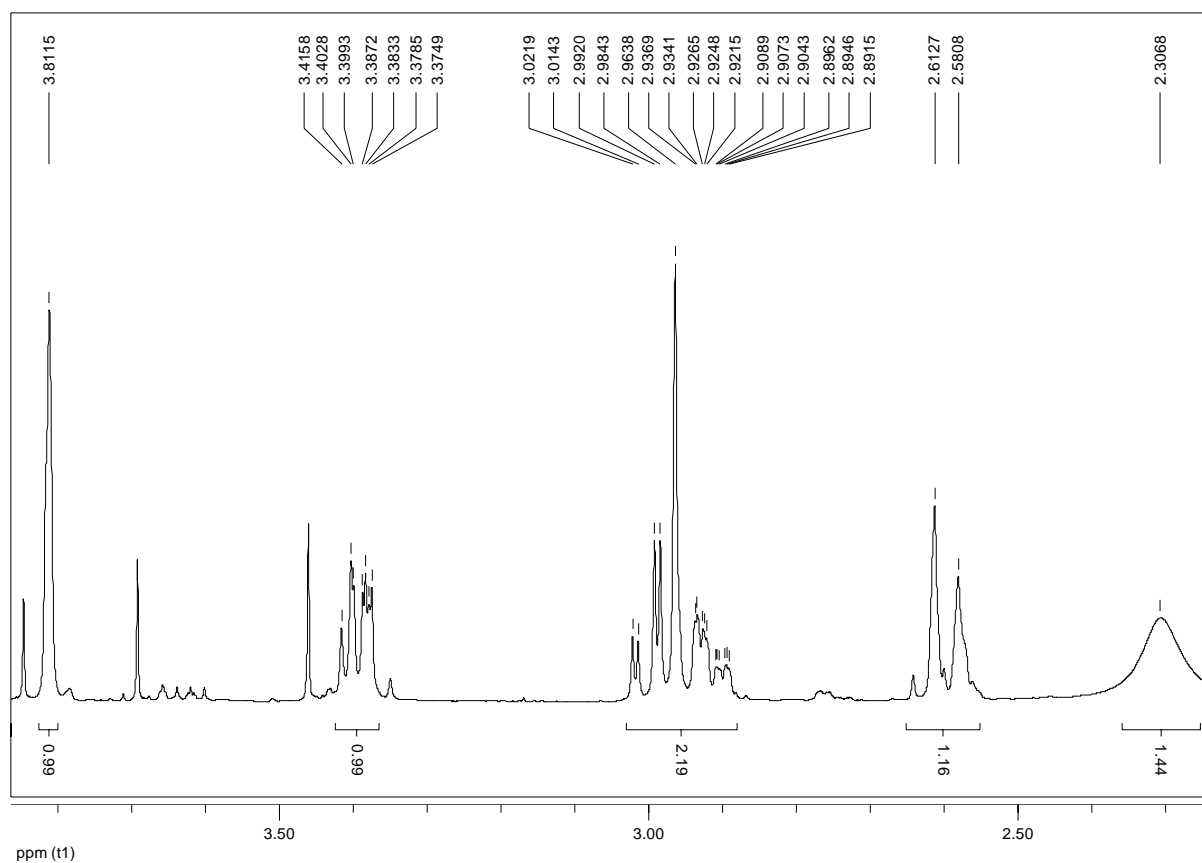
E41. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G20**.



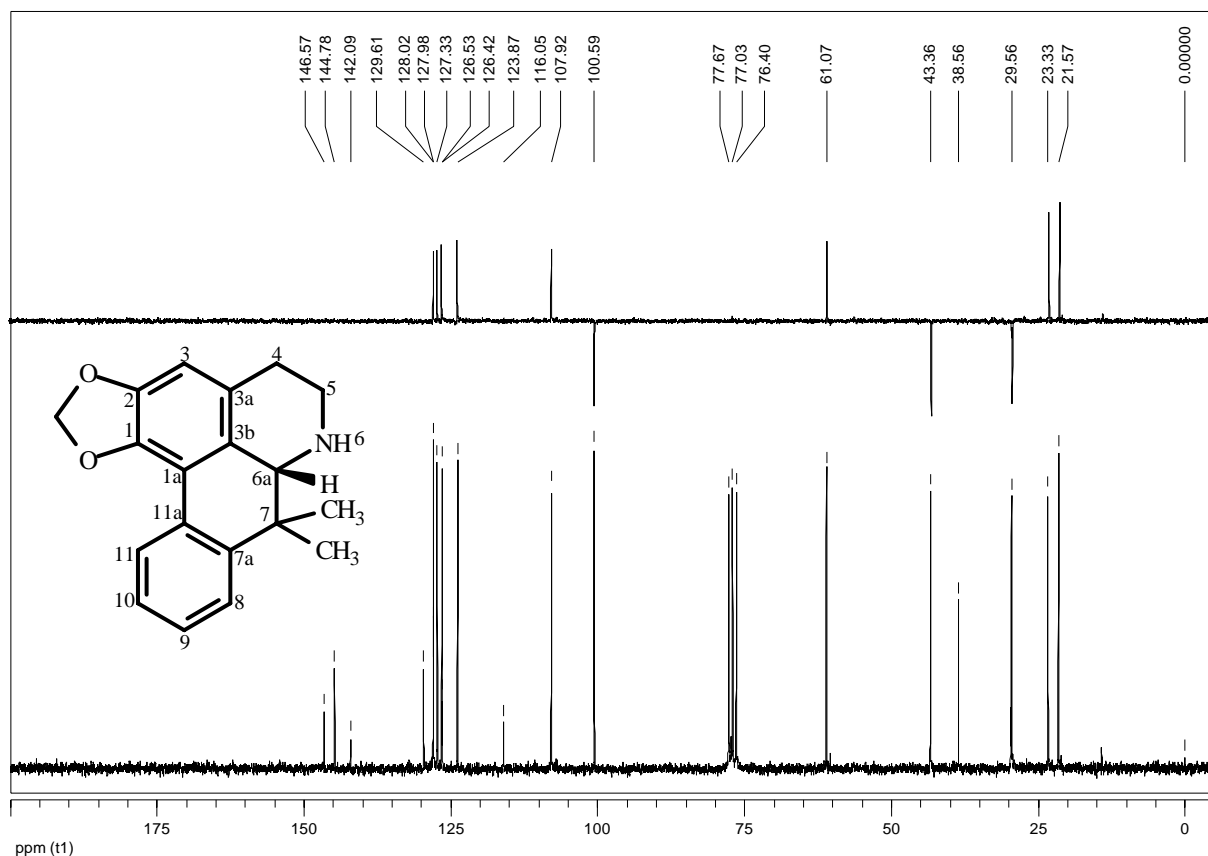
E42. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G20**.



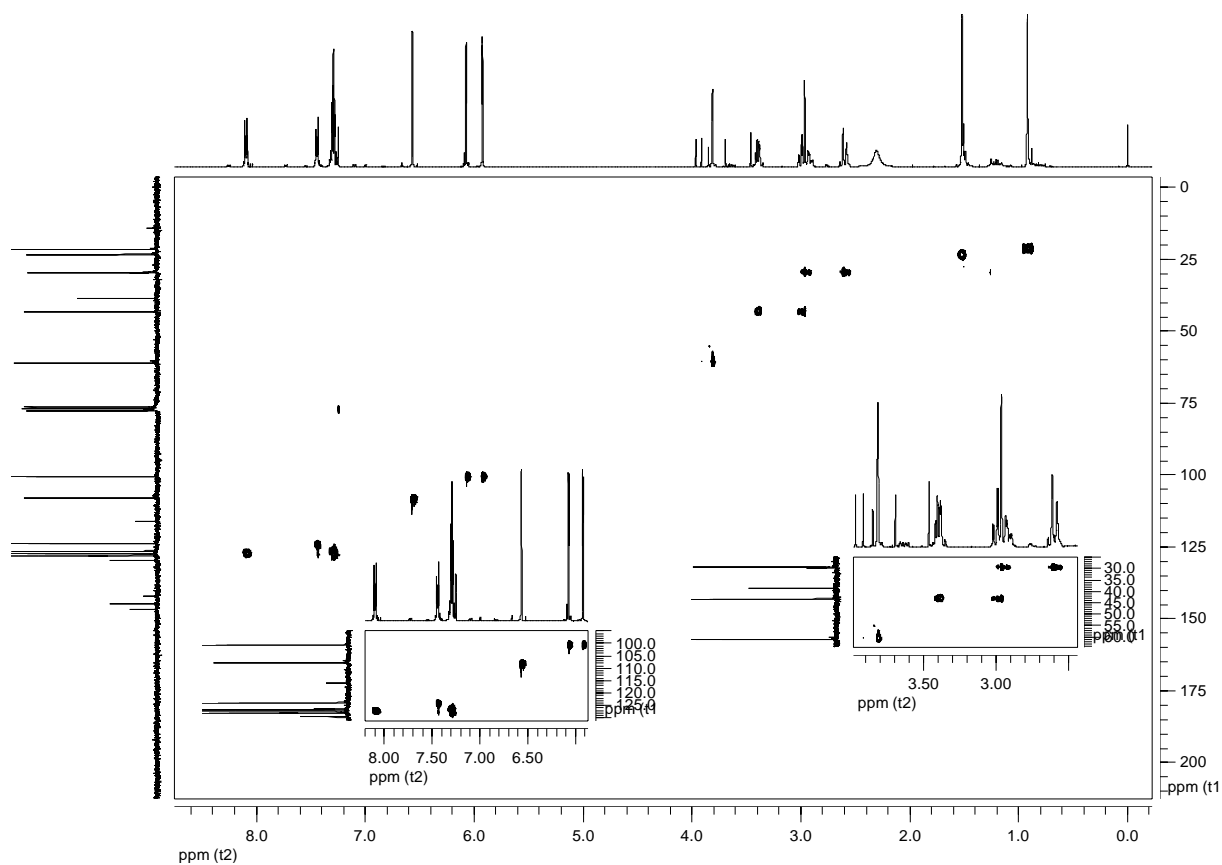
E43. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G20**.



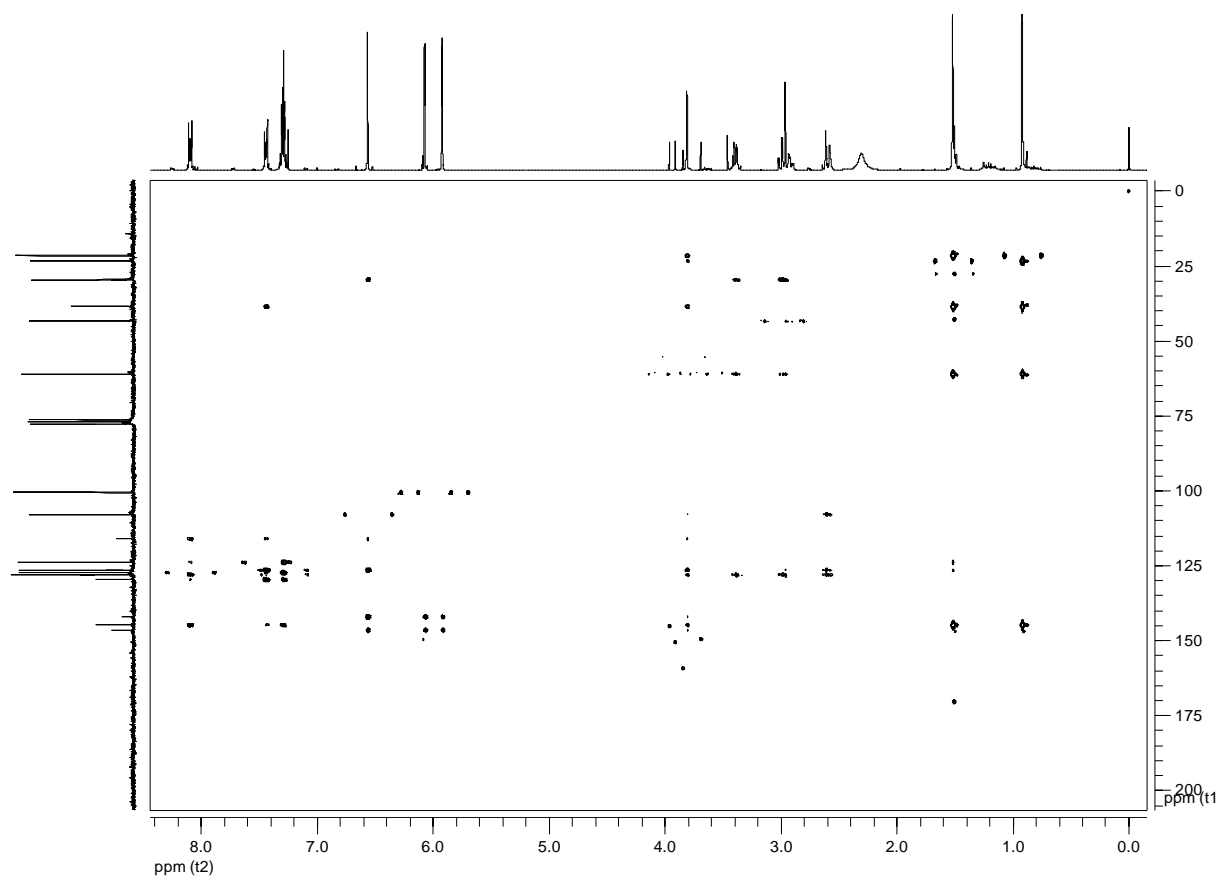
E44. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G20**.



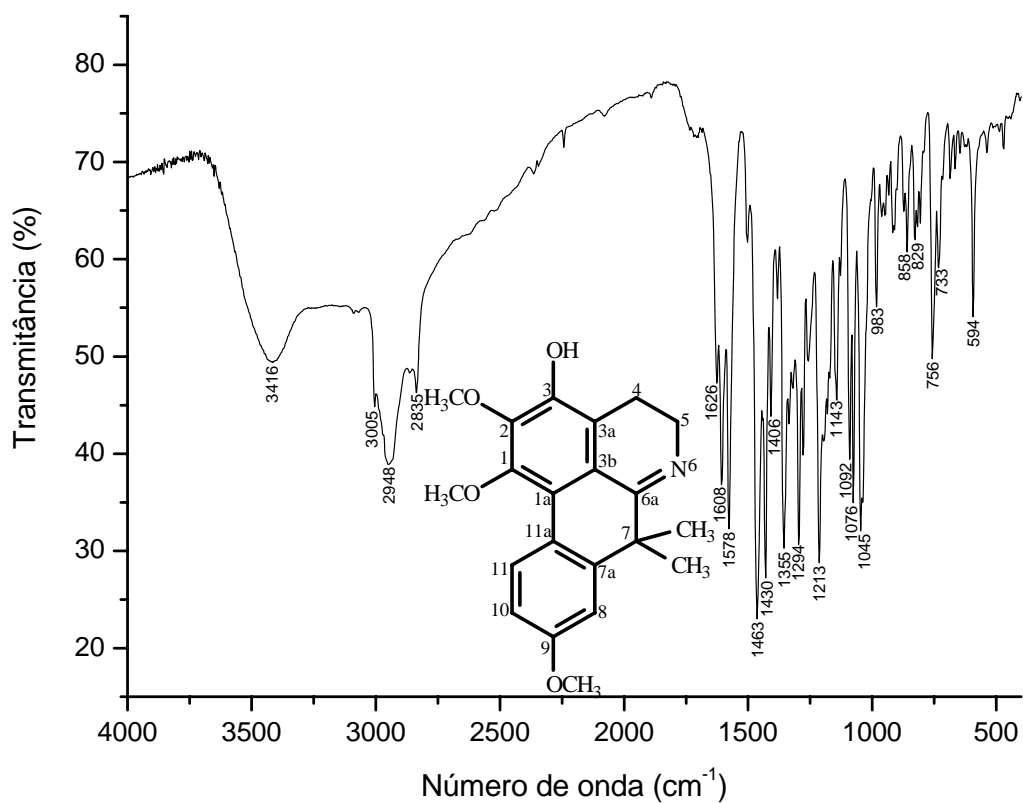
E45. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) de **G20**.



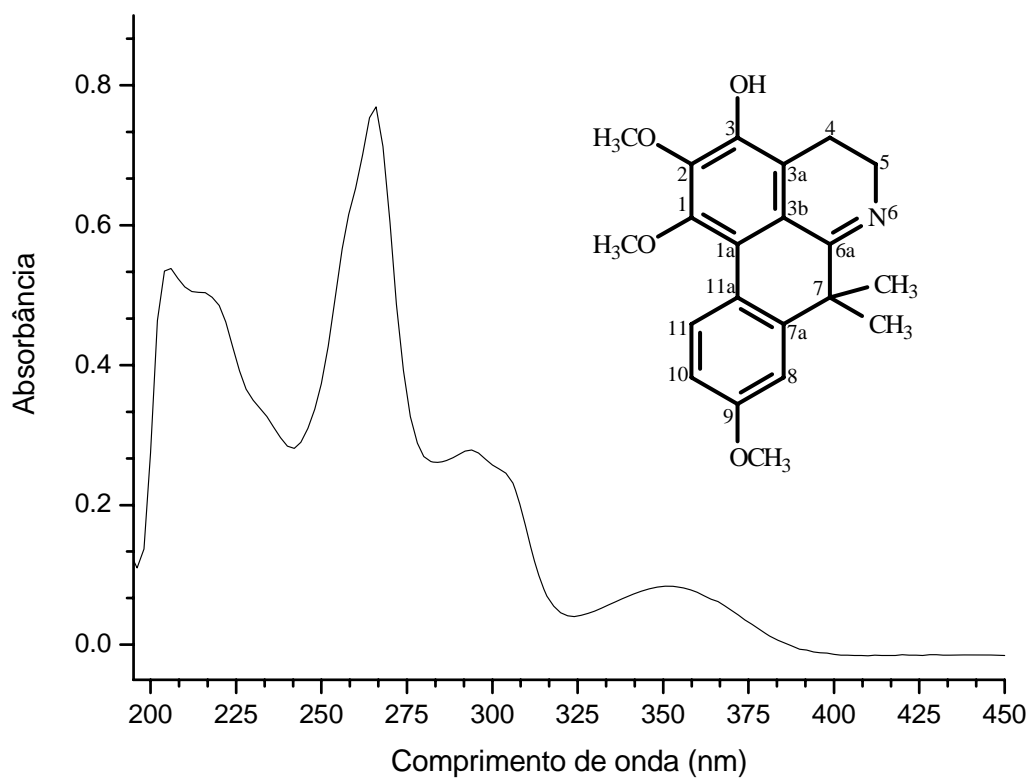
E46. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G20**.



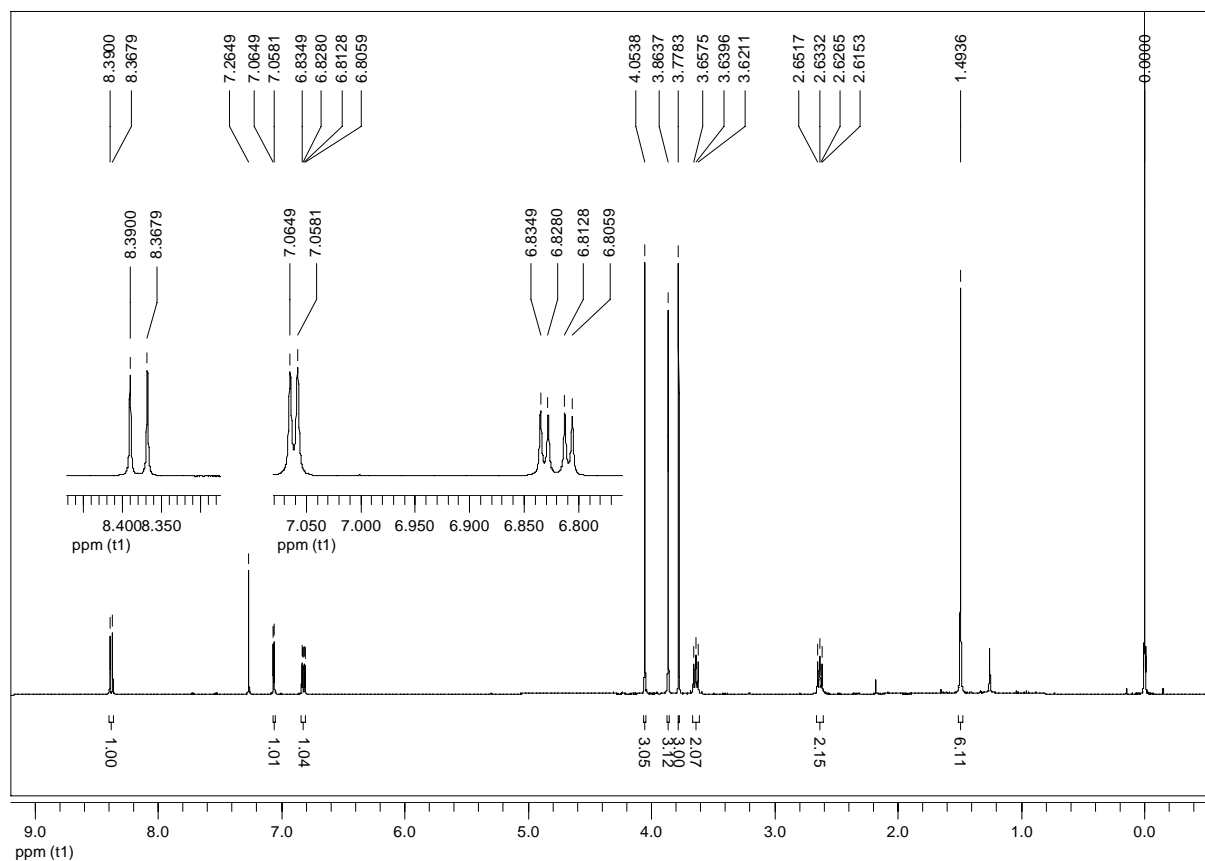
E47. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G20**.



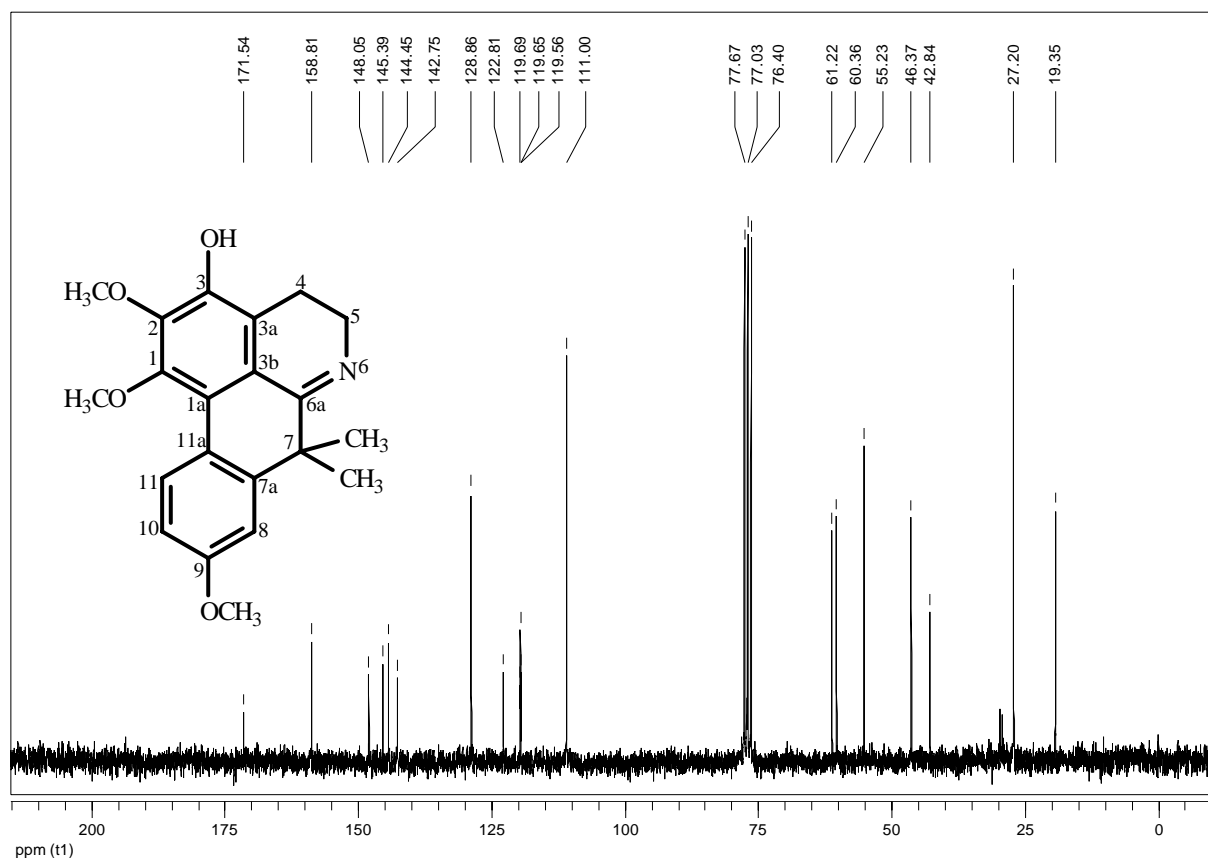
E48. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G21**.



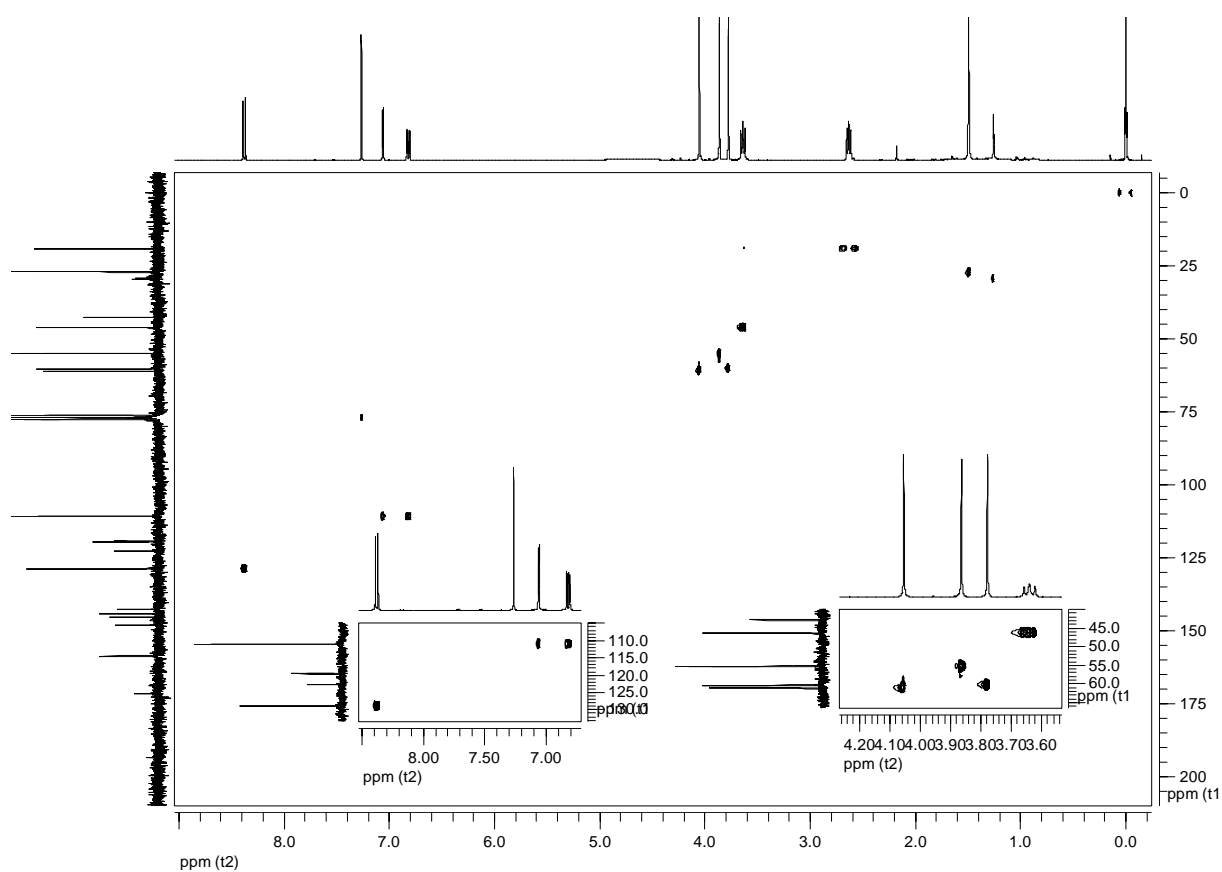
E49. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G21**.



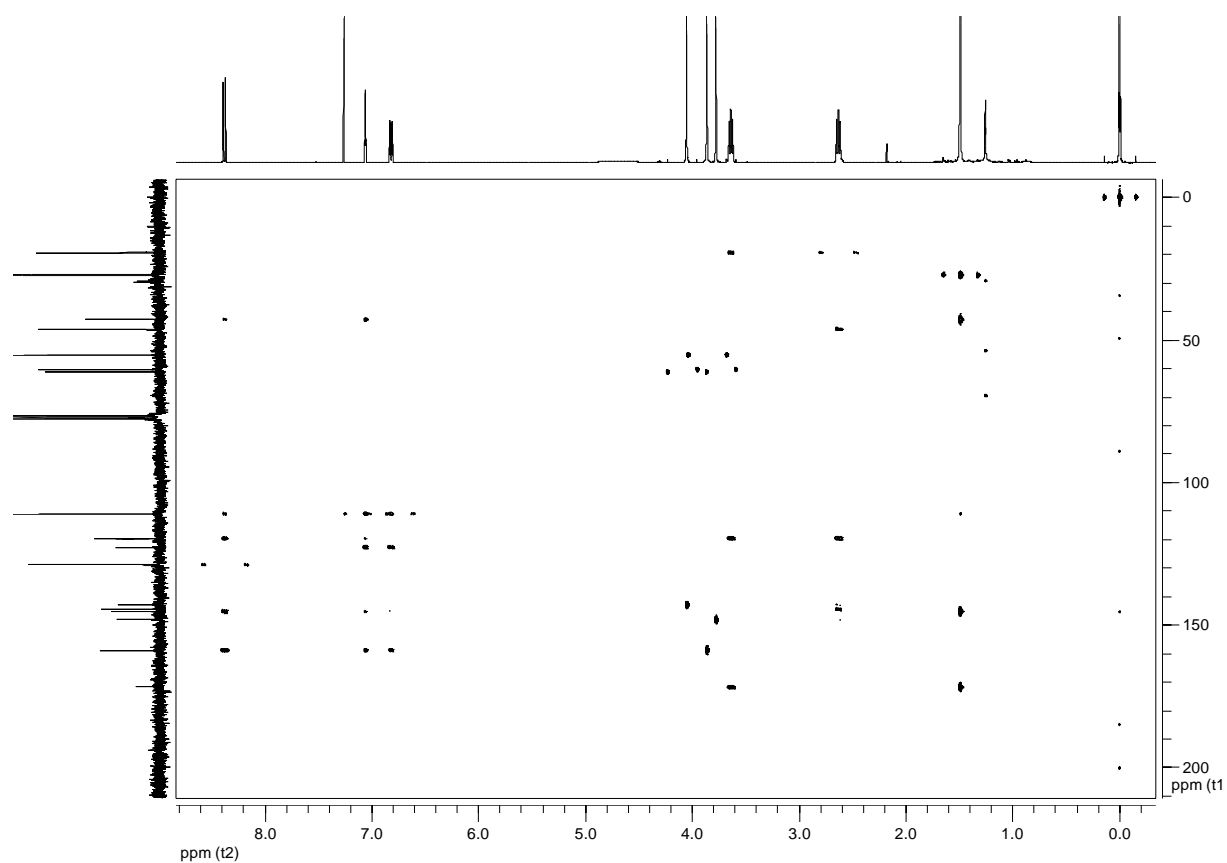
E50. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G21**.



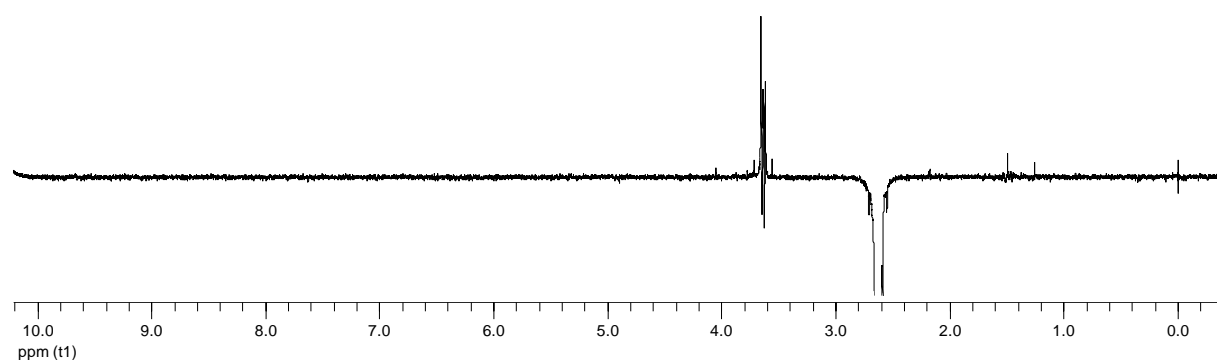
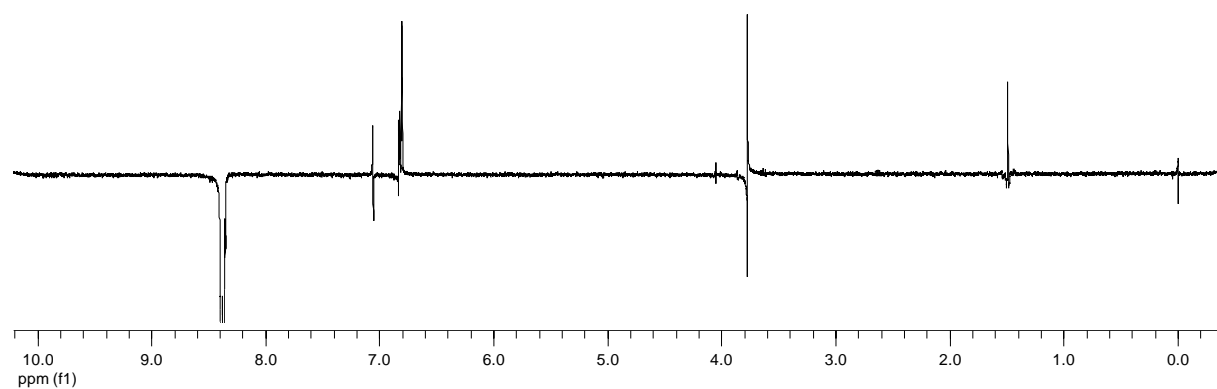
E51. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G21**.



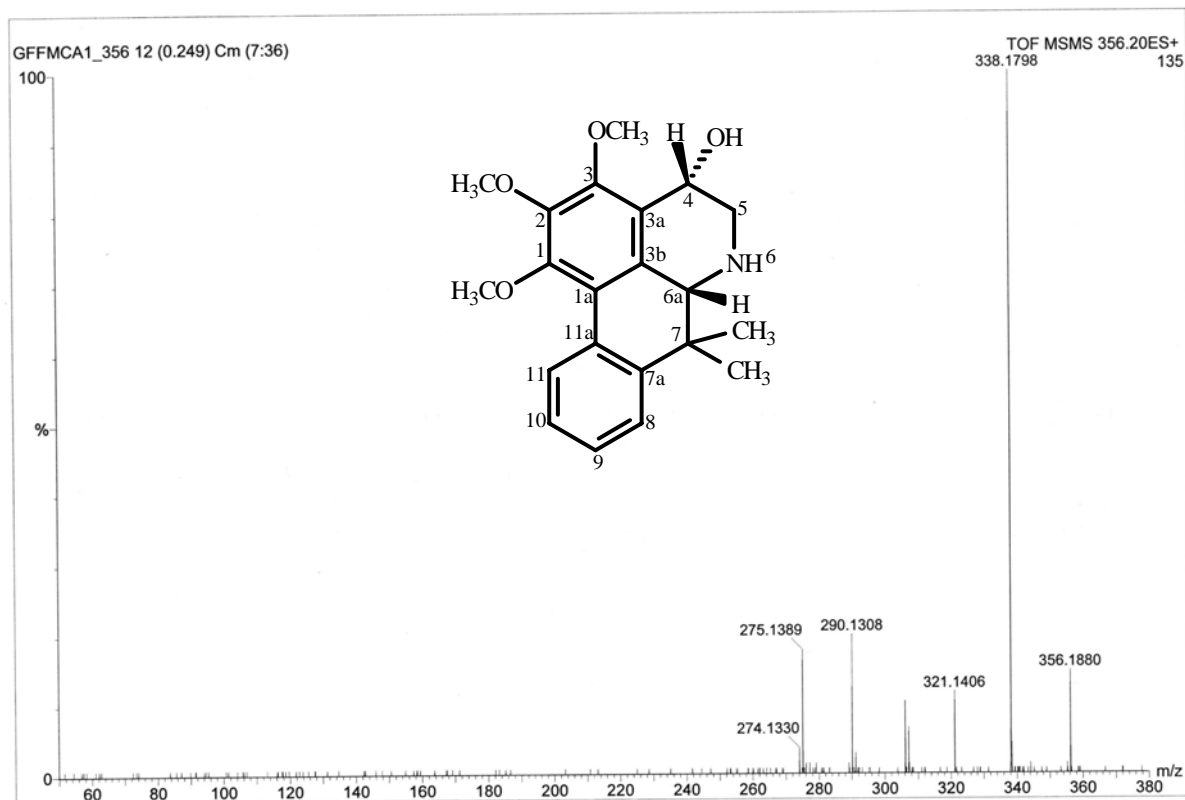
E52. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G21**.



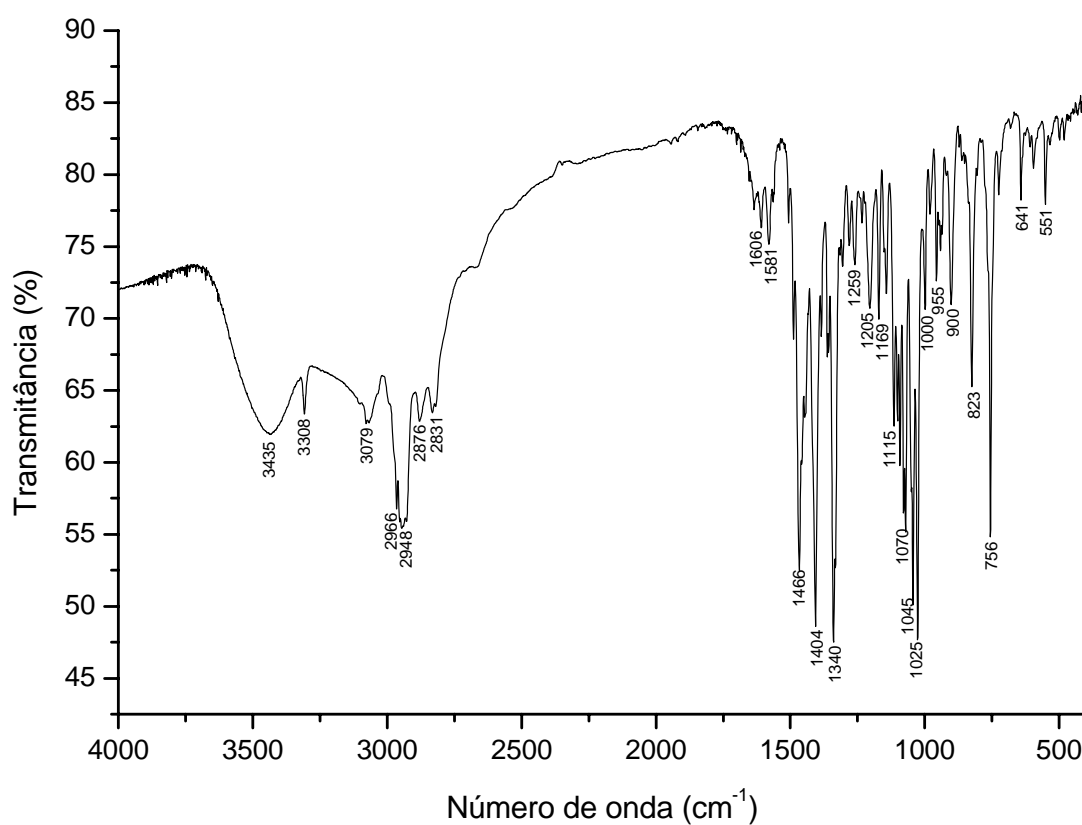
E53. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G21**.



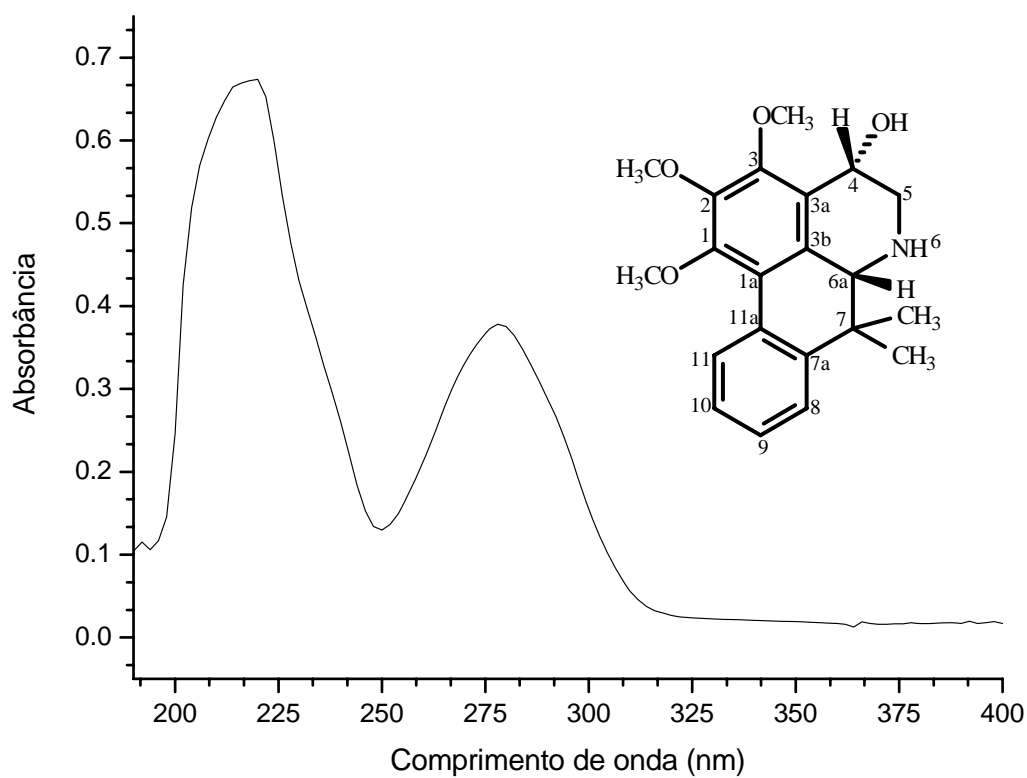
E54. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl₃) de **G21**.



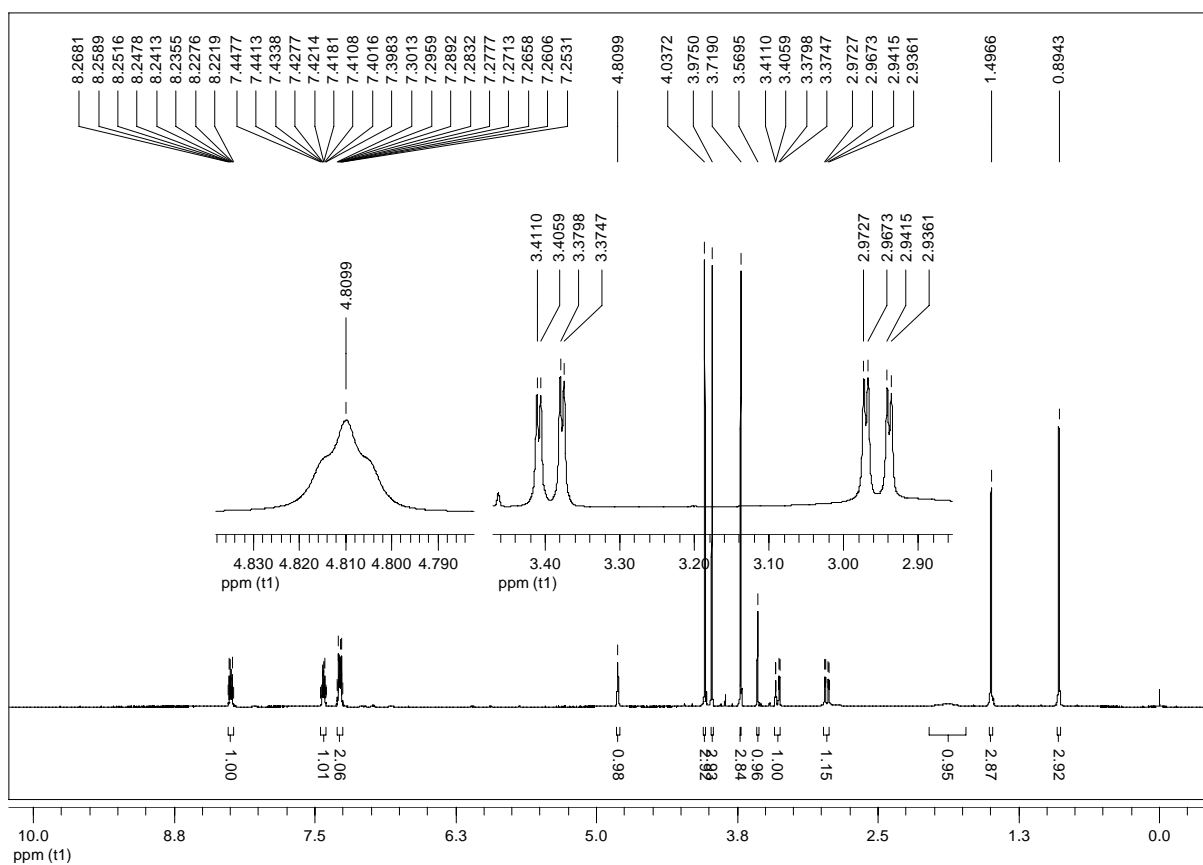
E55. Espectro de massas de alta resolução de **G22** (HRESIMS+).



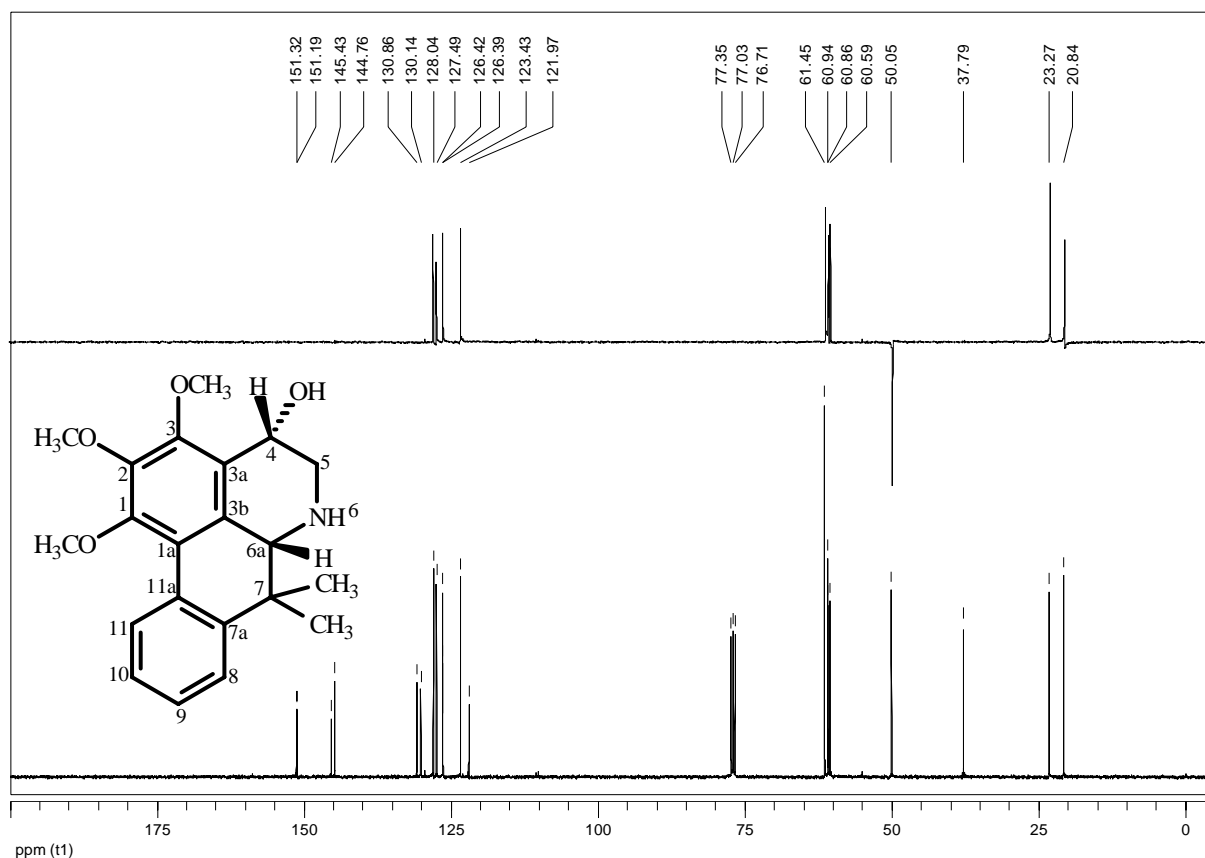
E56. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G22**.



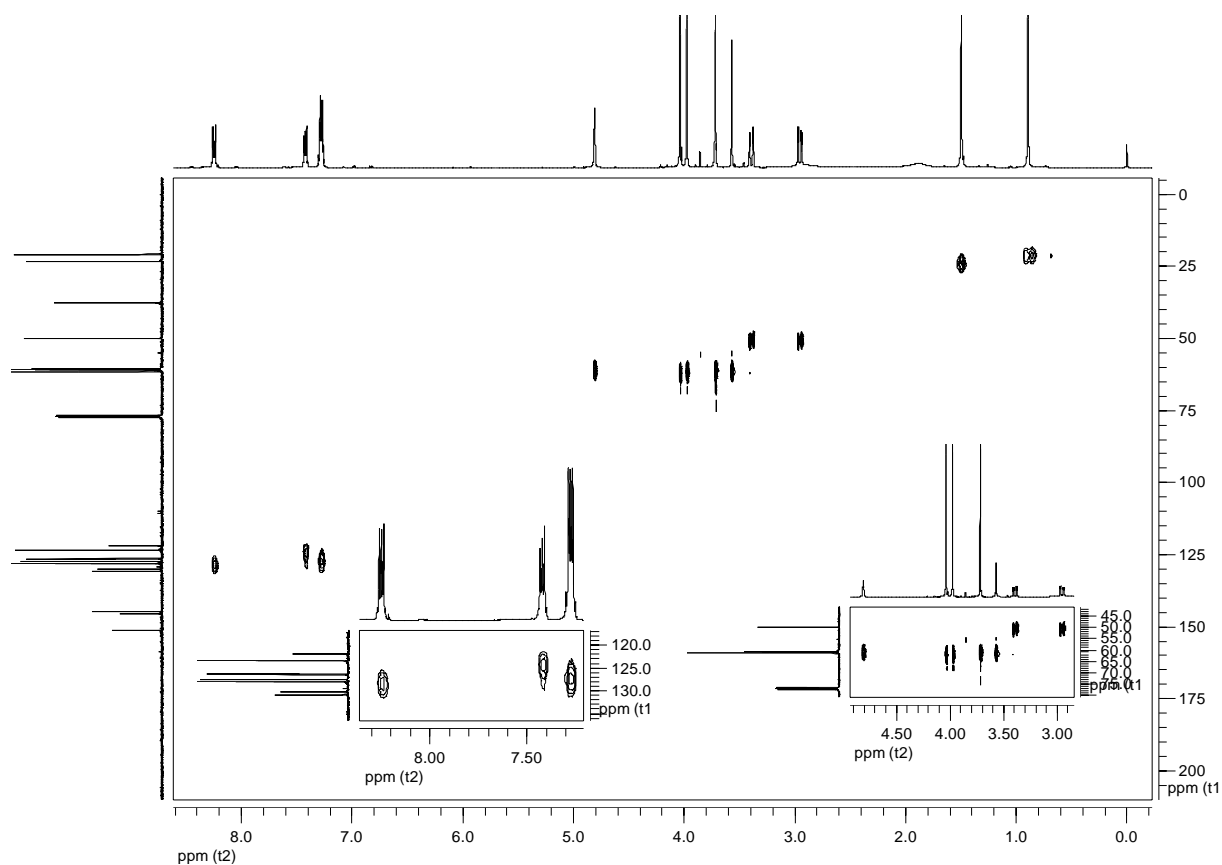
E57. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G22**.



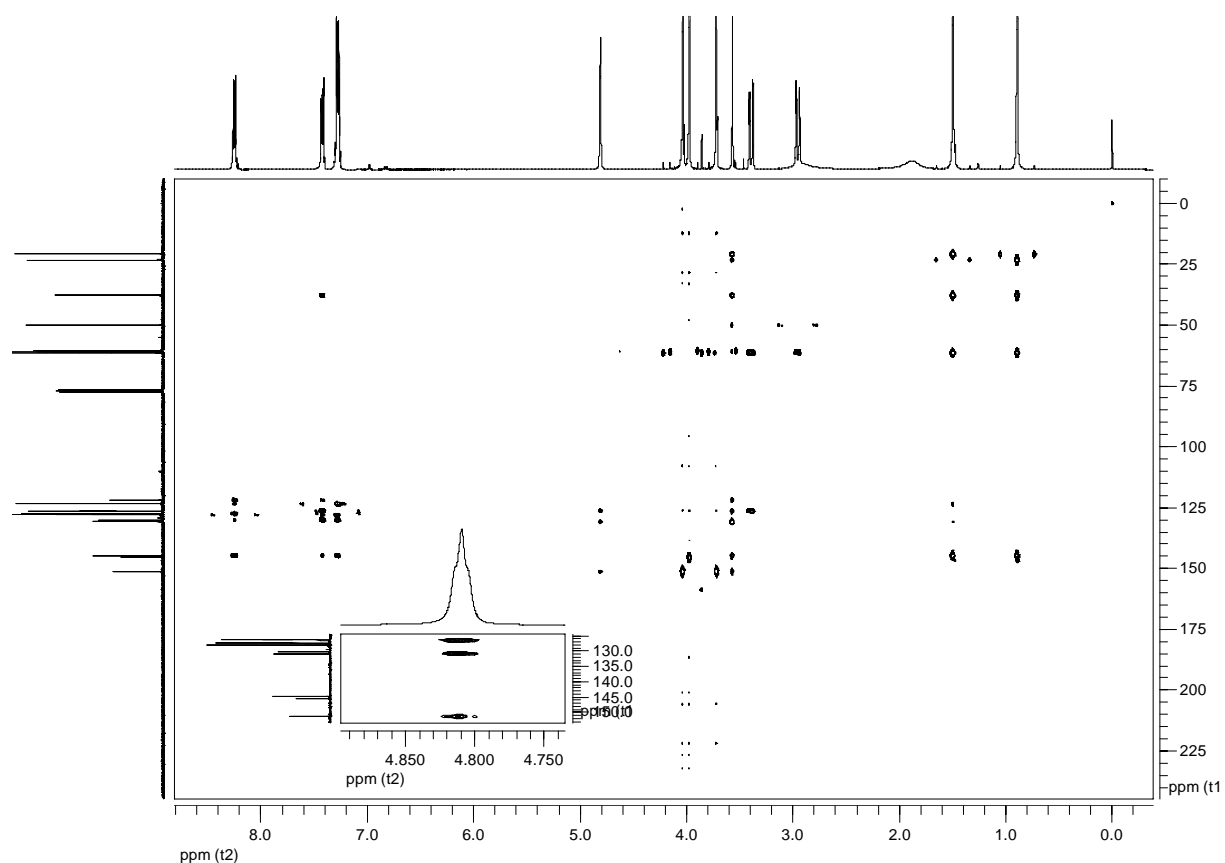
E58. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G22**.



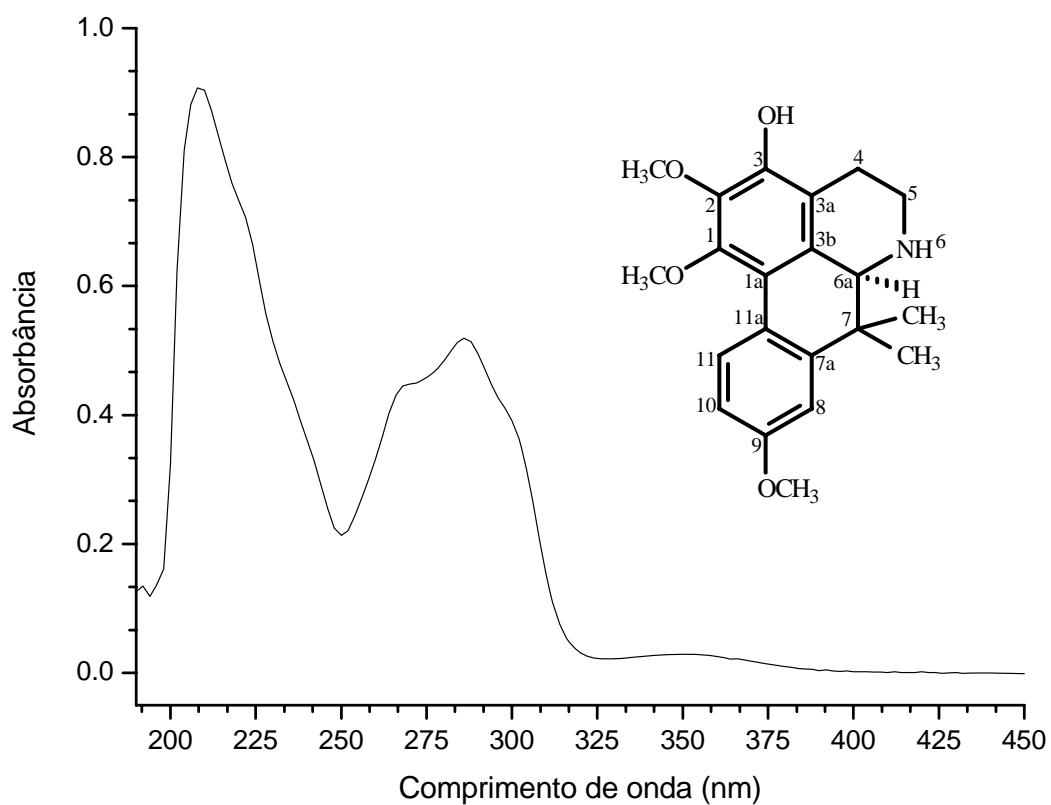
E59. Espectro de RMN de ¹³C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl₃) de **G22**.



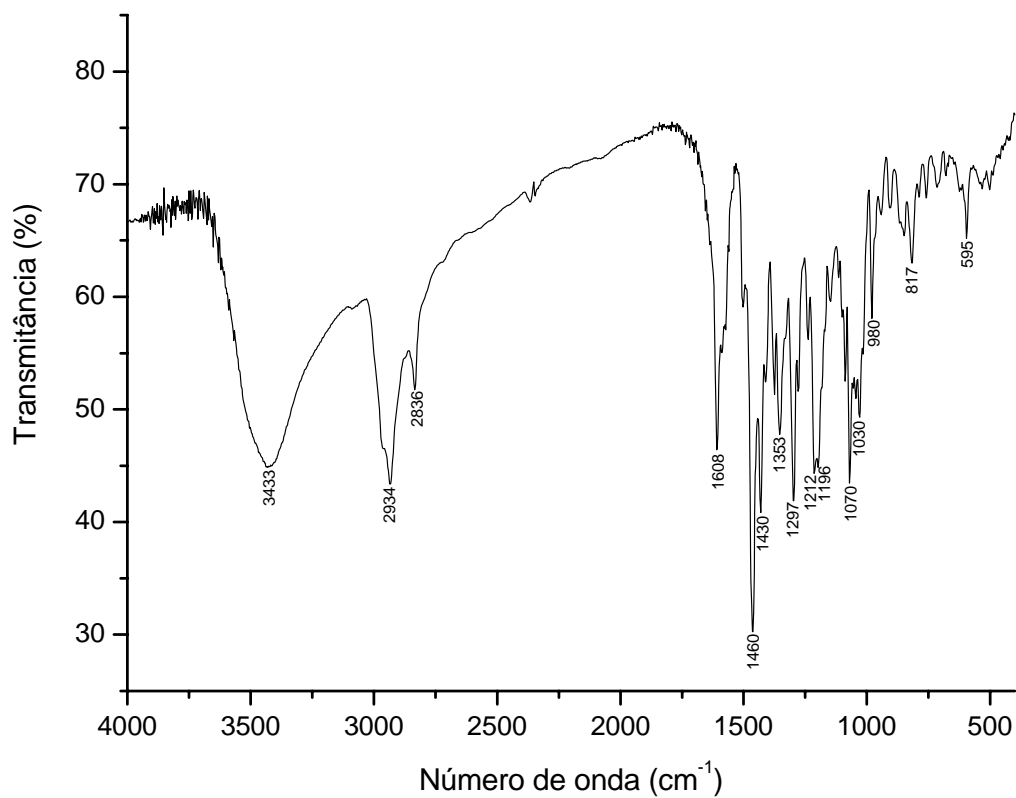
E60. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G22**.



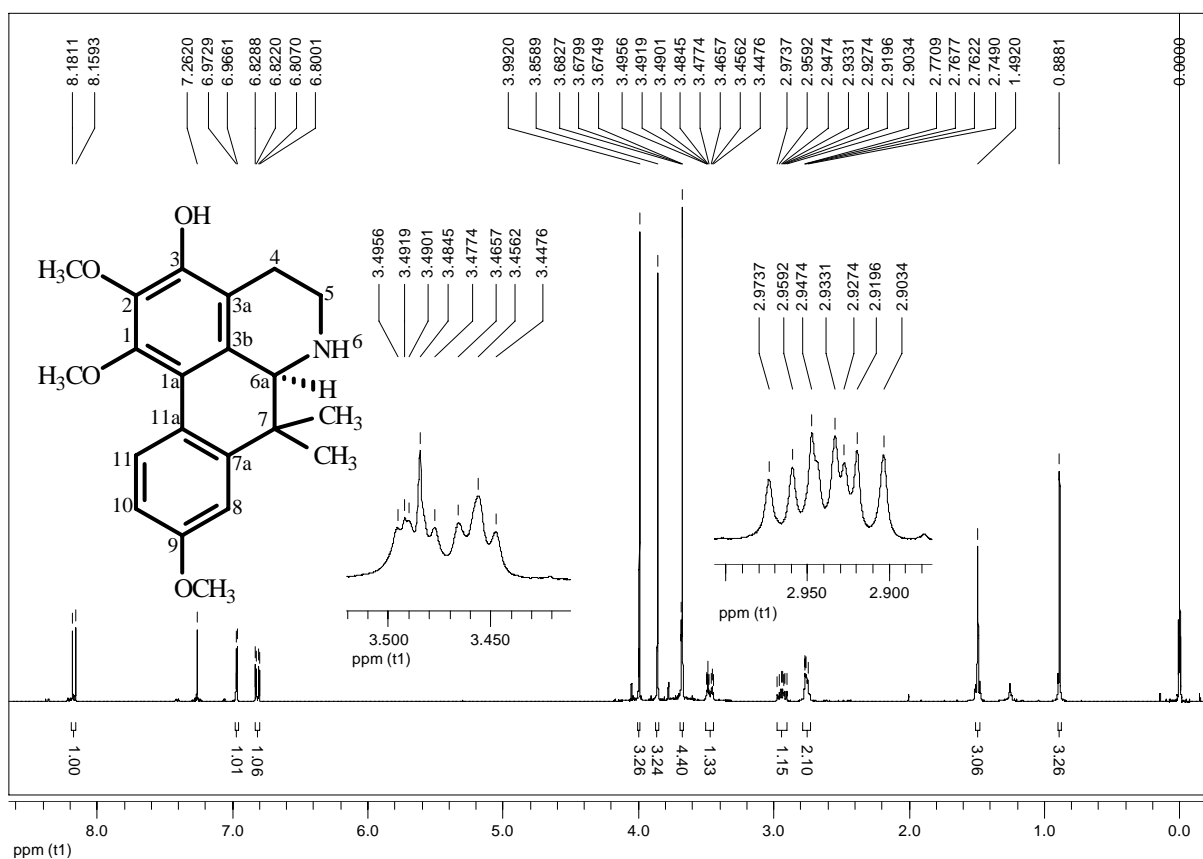
E61. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G22**.



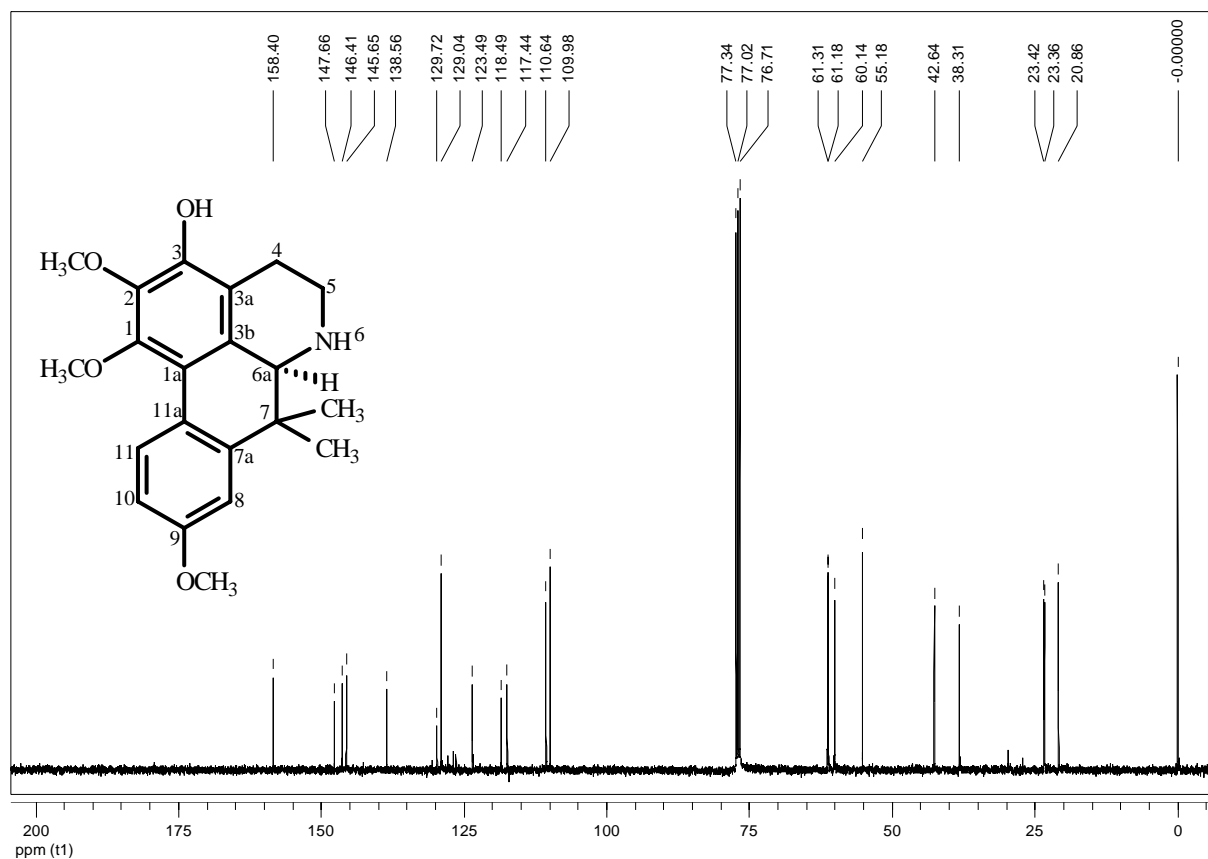
E62. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G23**.



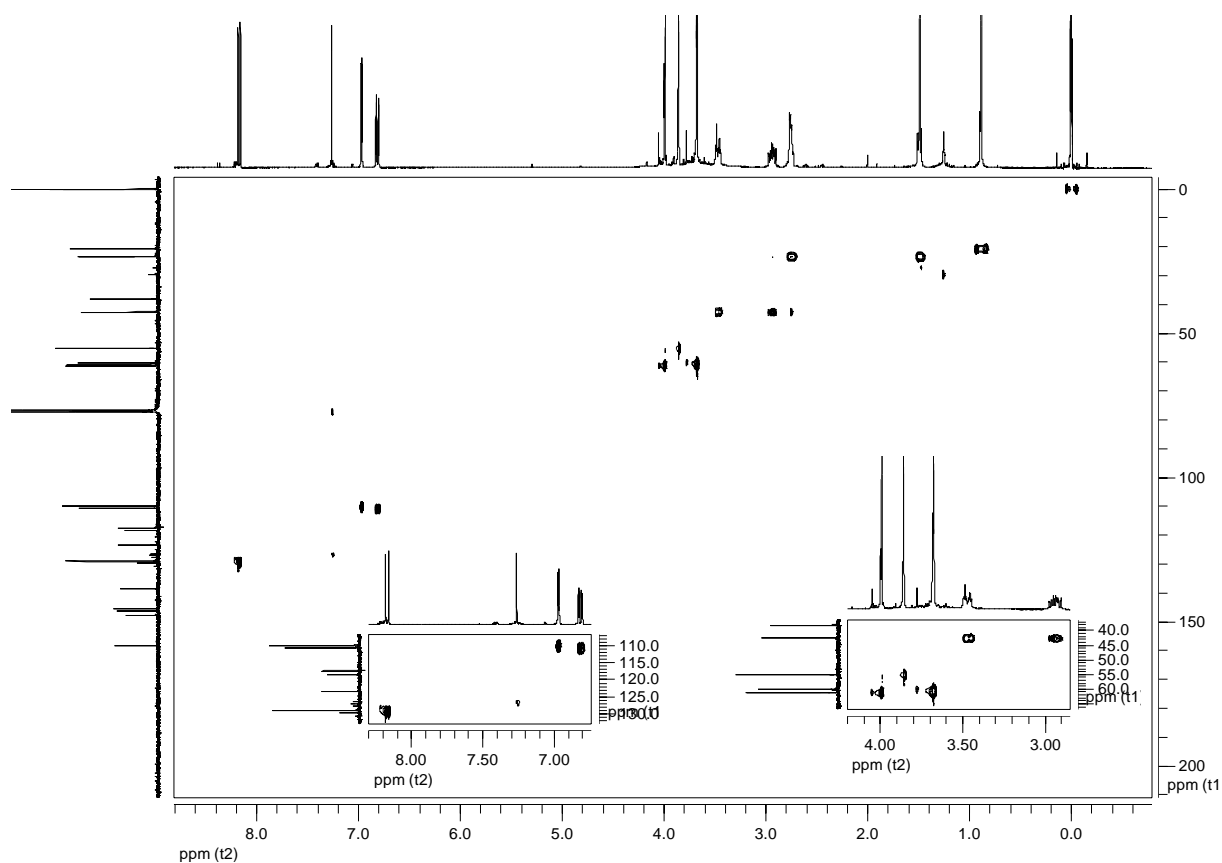
E63. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G23**.



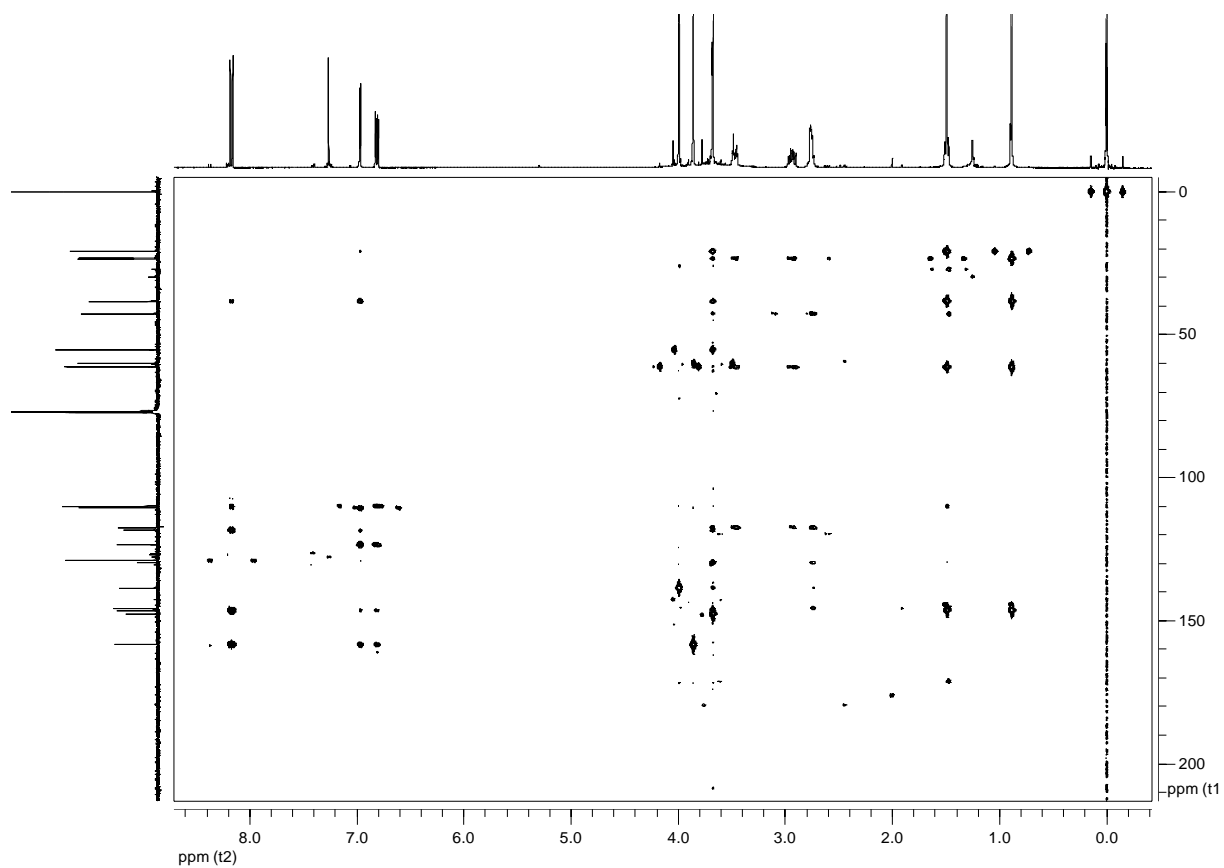
E64. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G23**.



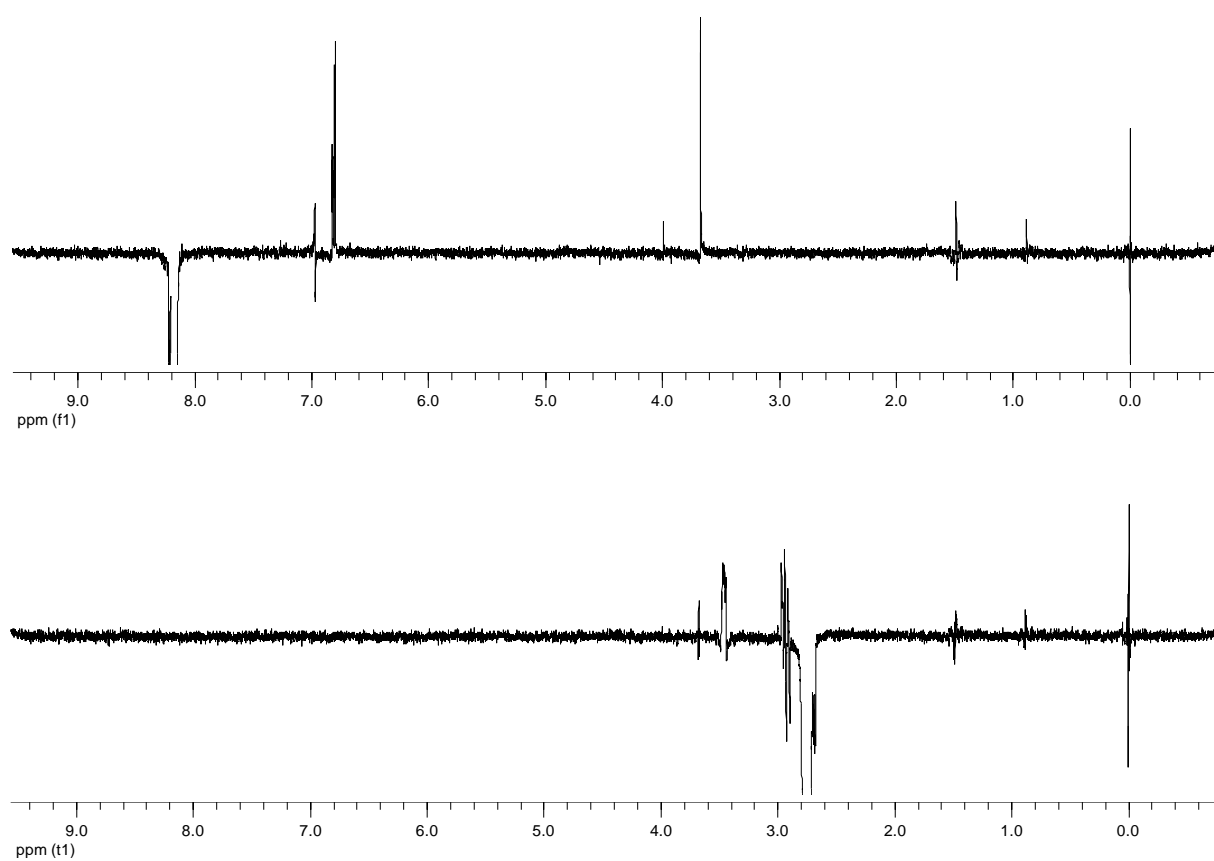
E65. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G23**.



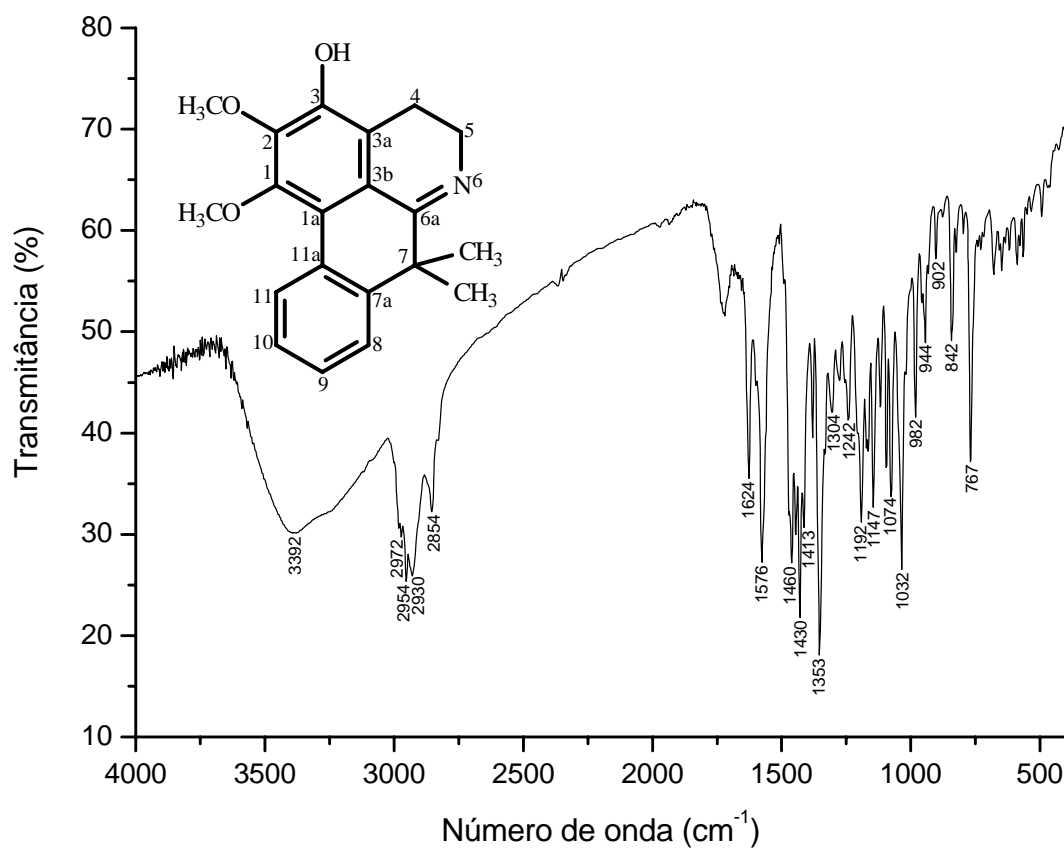
E66. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G23**.



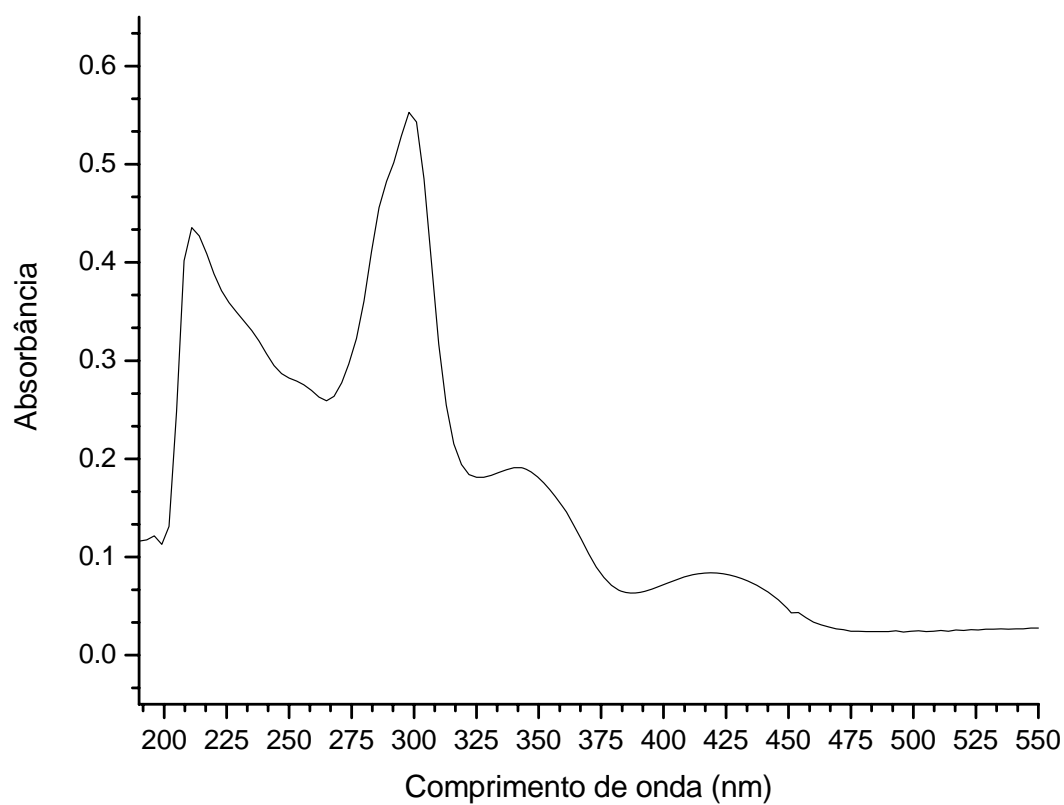
E67. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G23**.



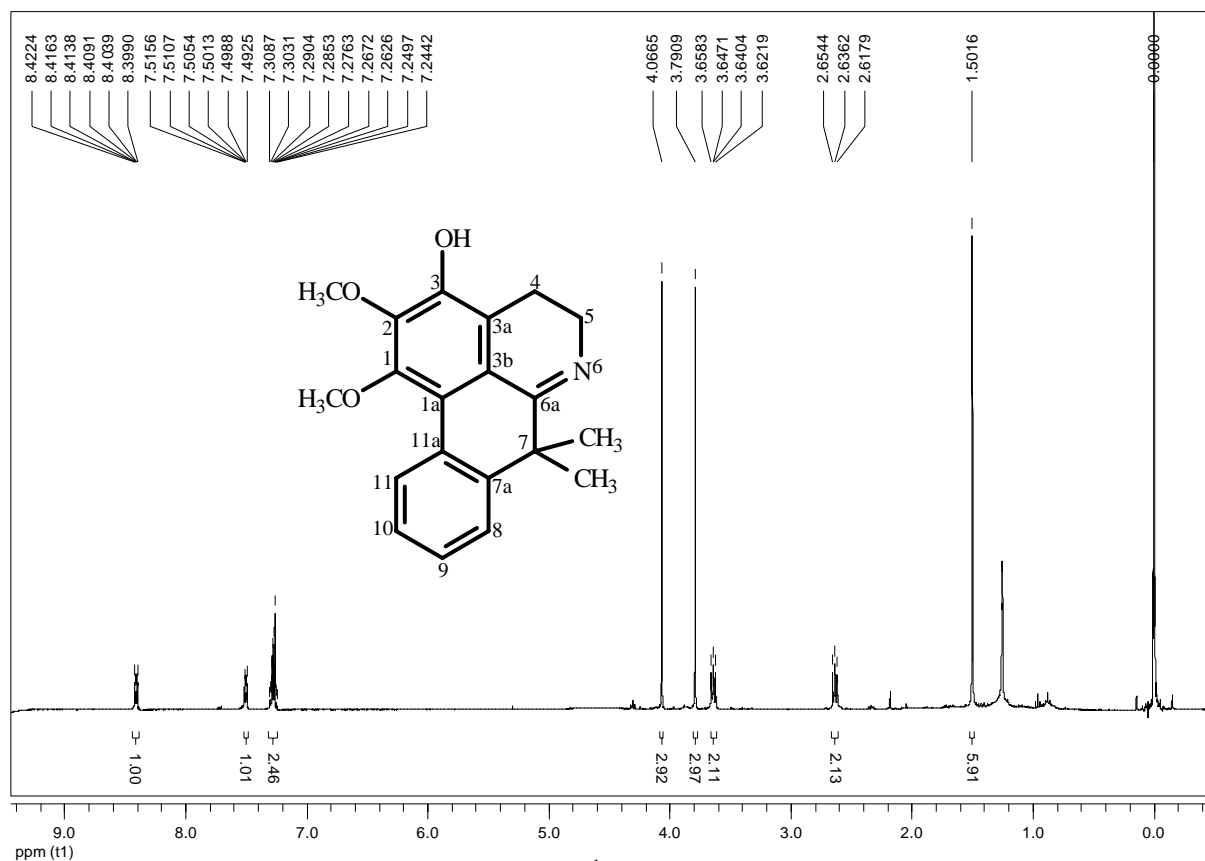
E68. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl₃) de **G23**.



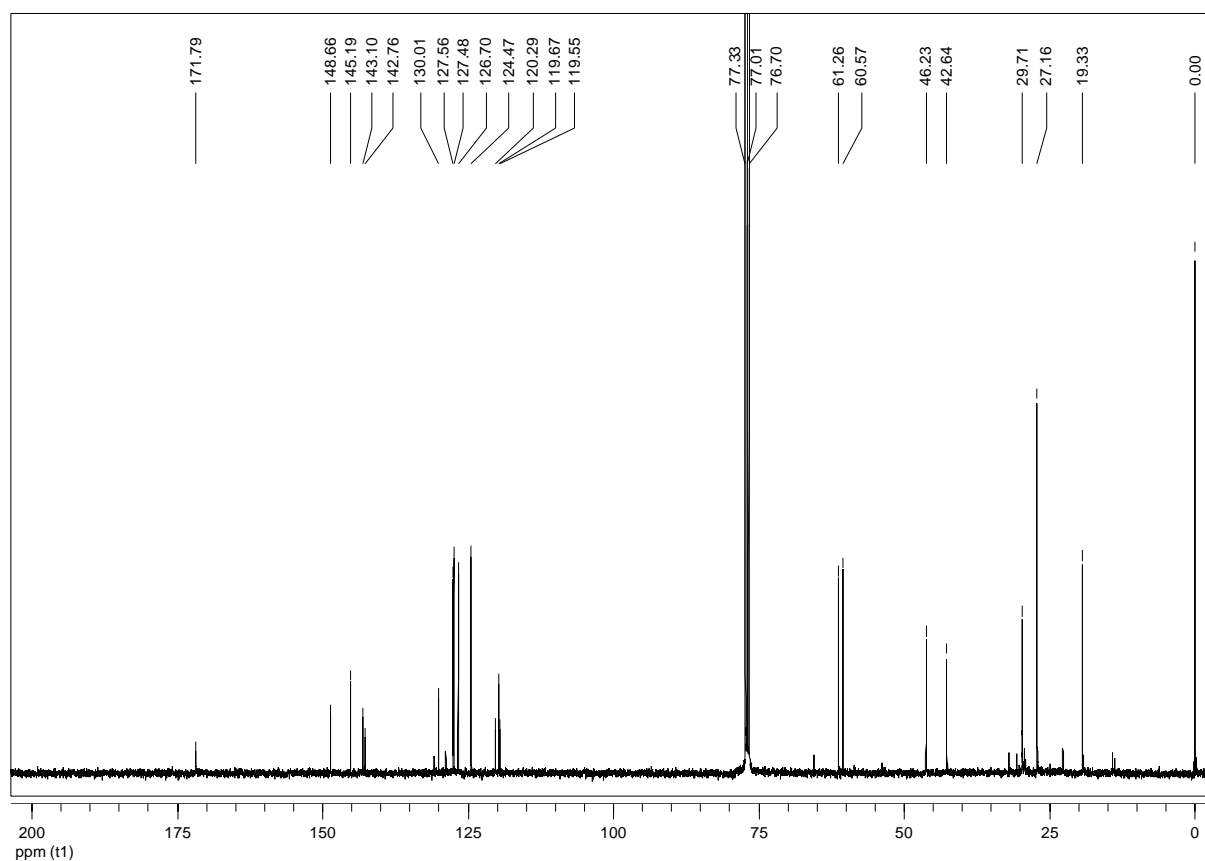
E69. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G24**.



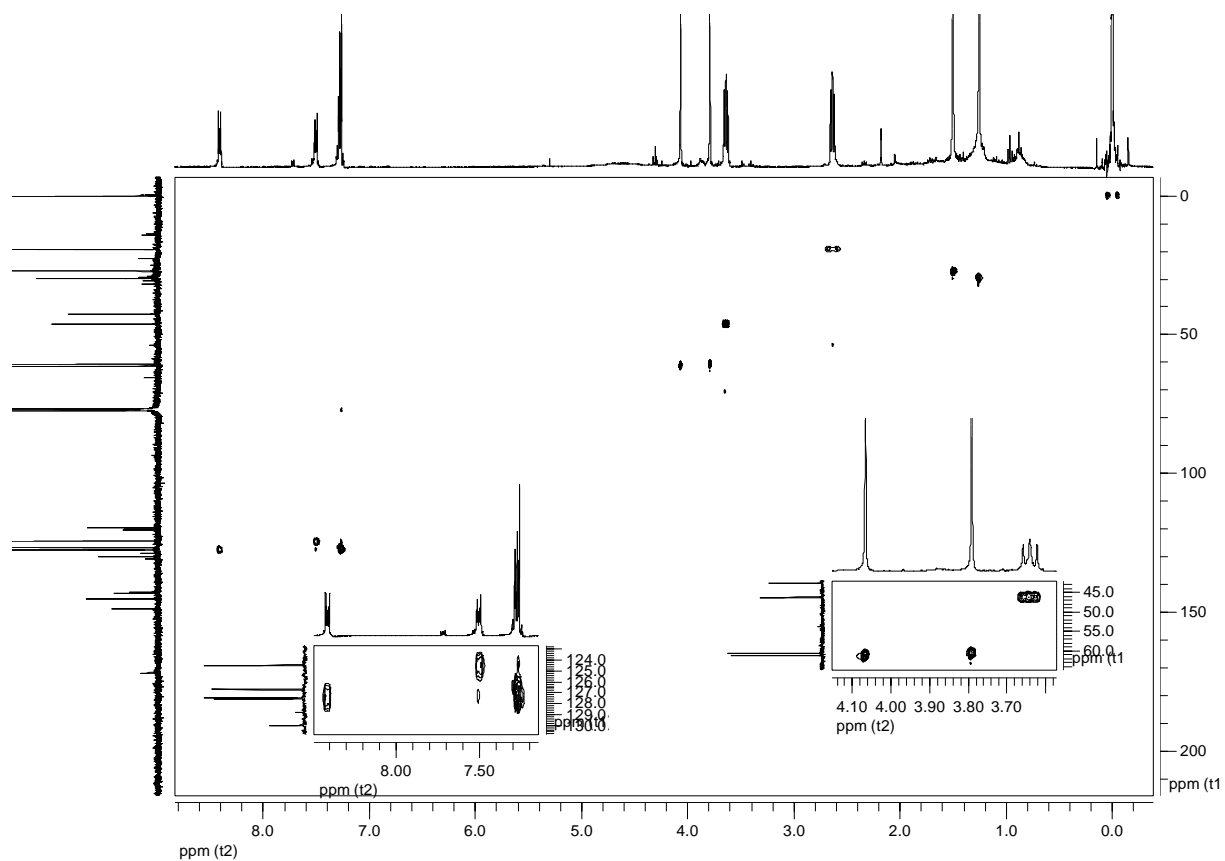
E70. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G24**.



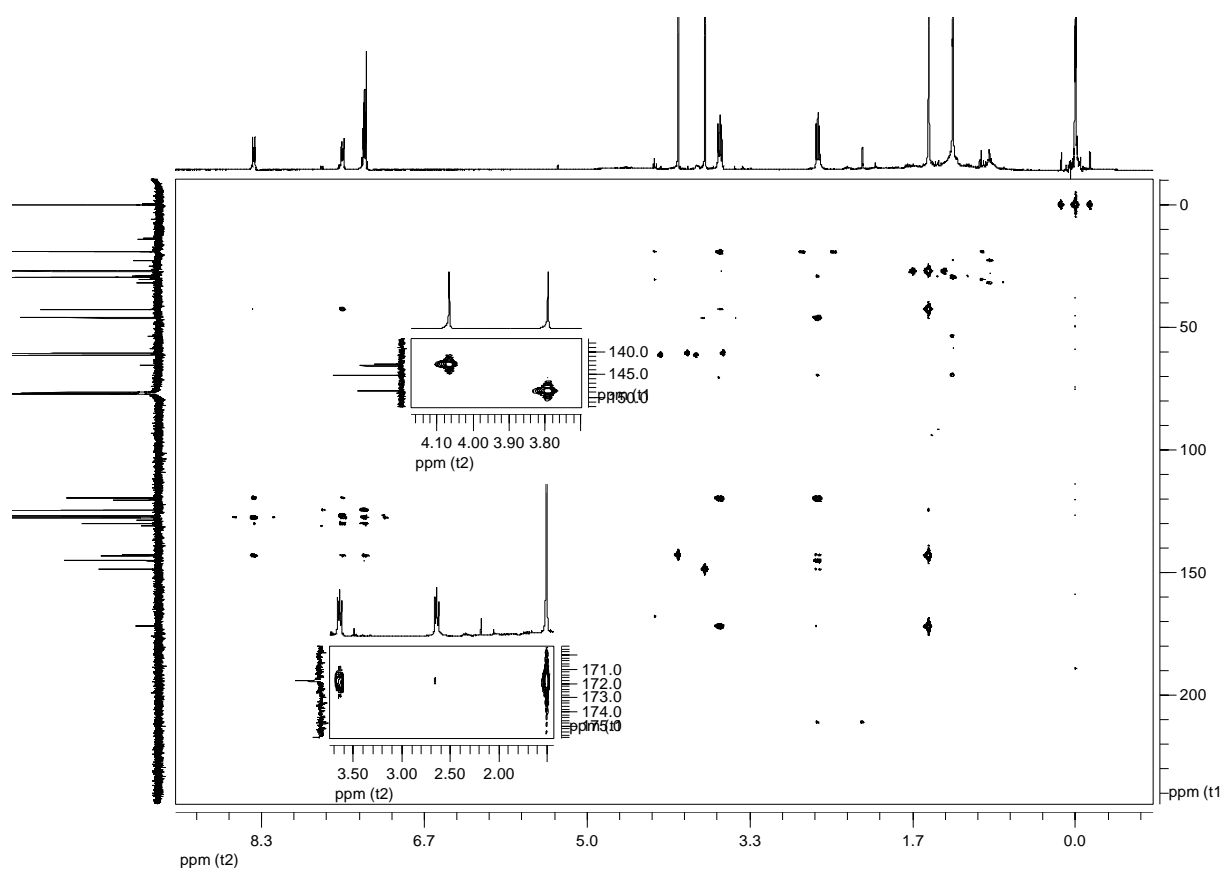
E71. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G24**.



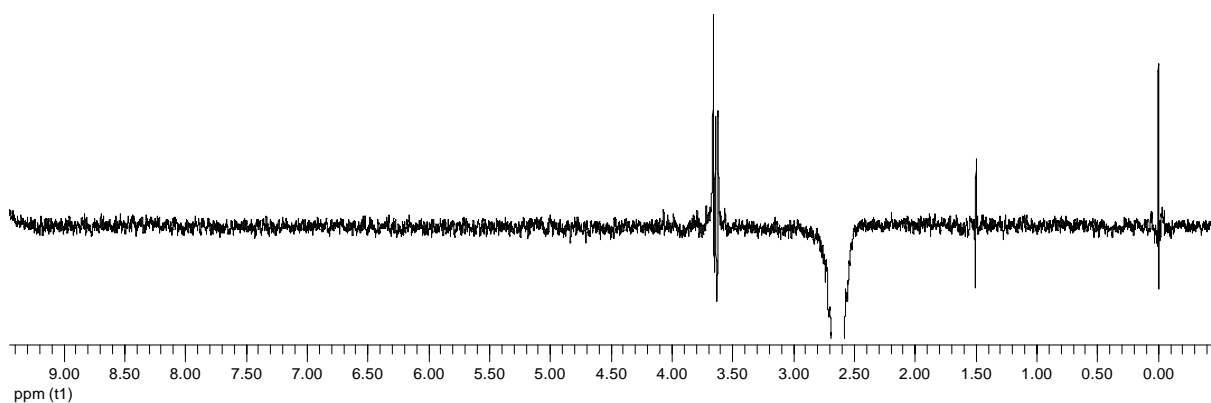
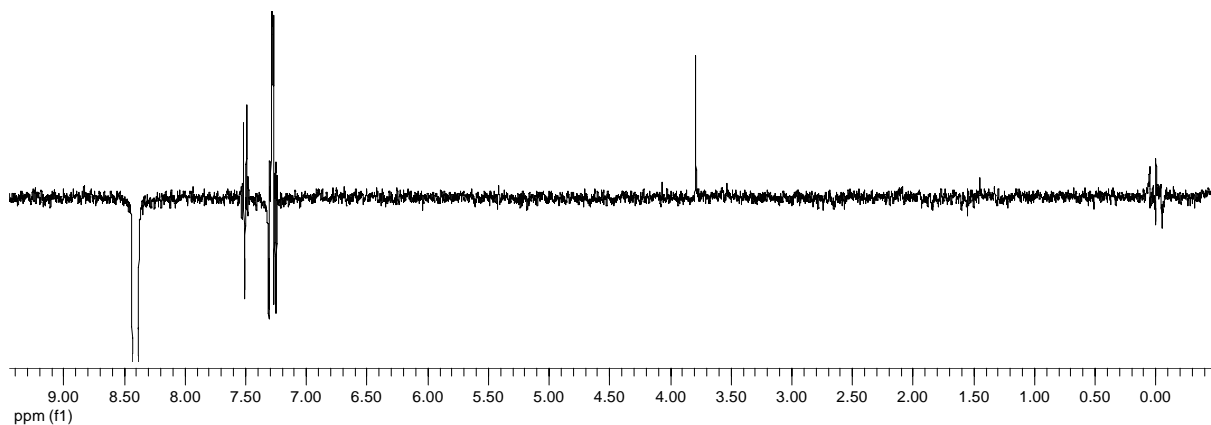
E72. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G24**.



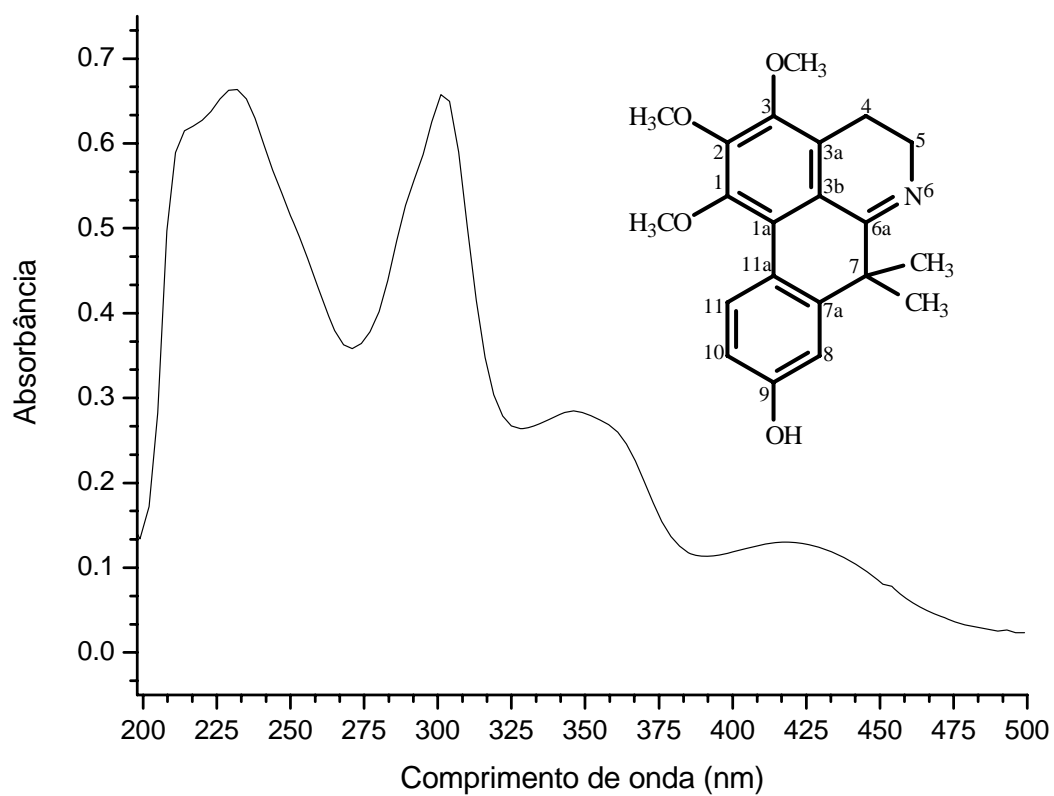
E73. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G24**.



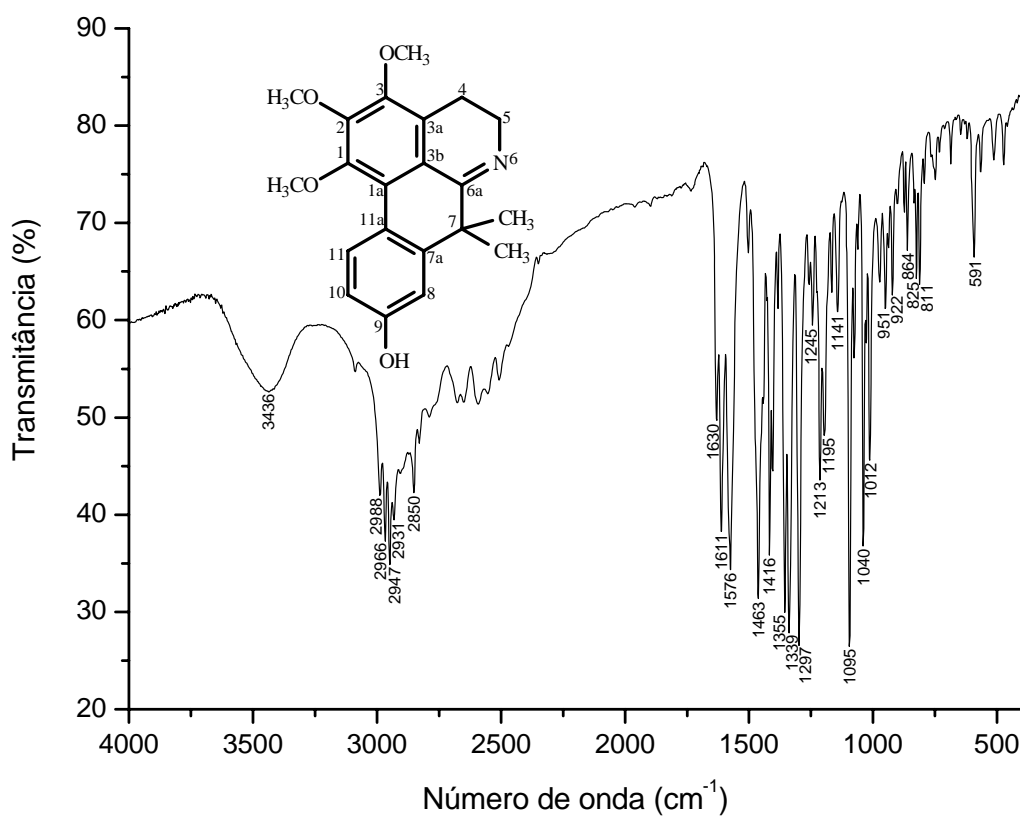
E74. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G24**.



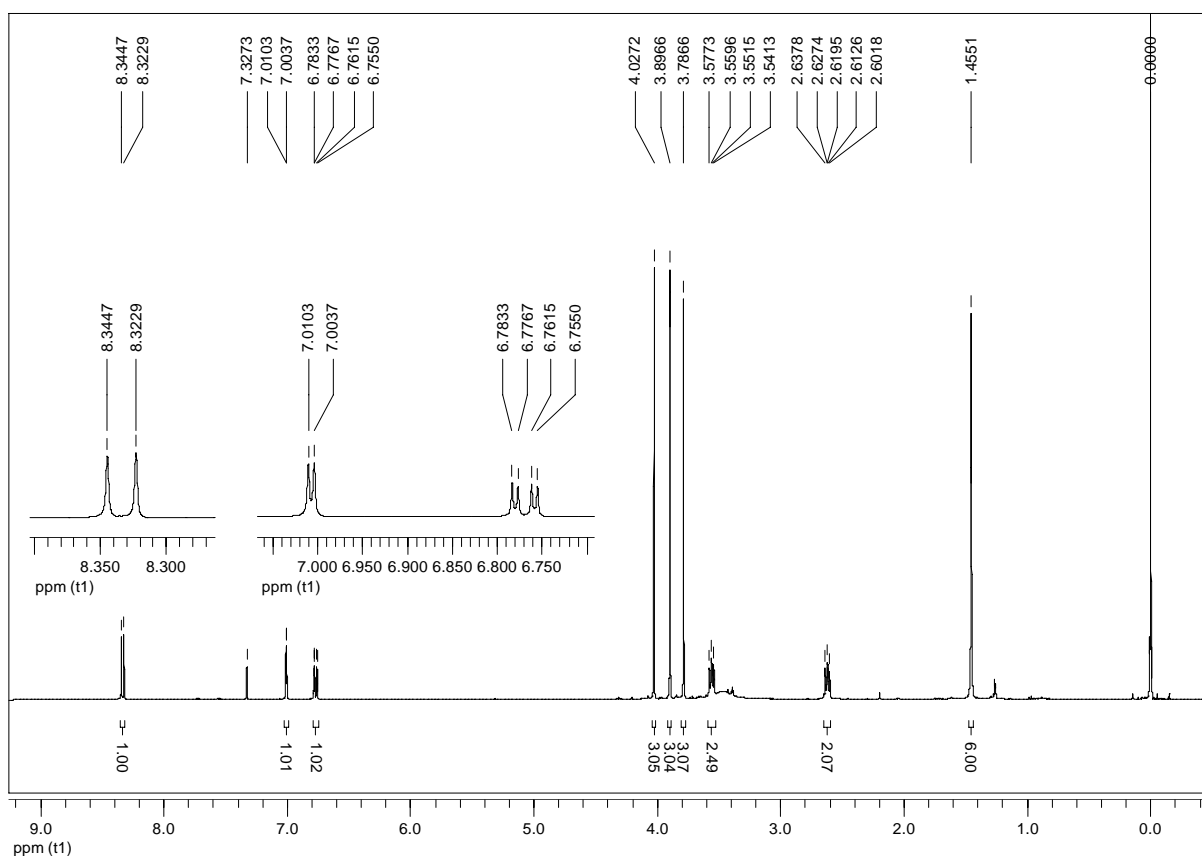
E75. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de **G24**.



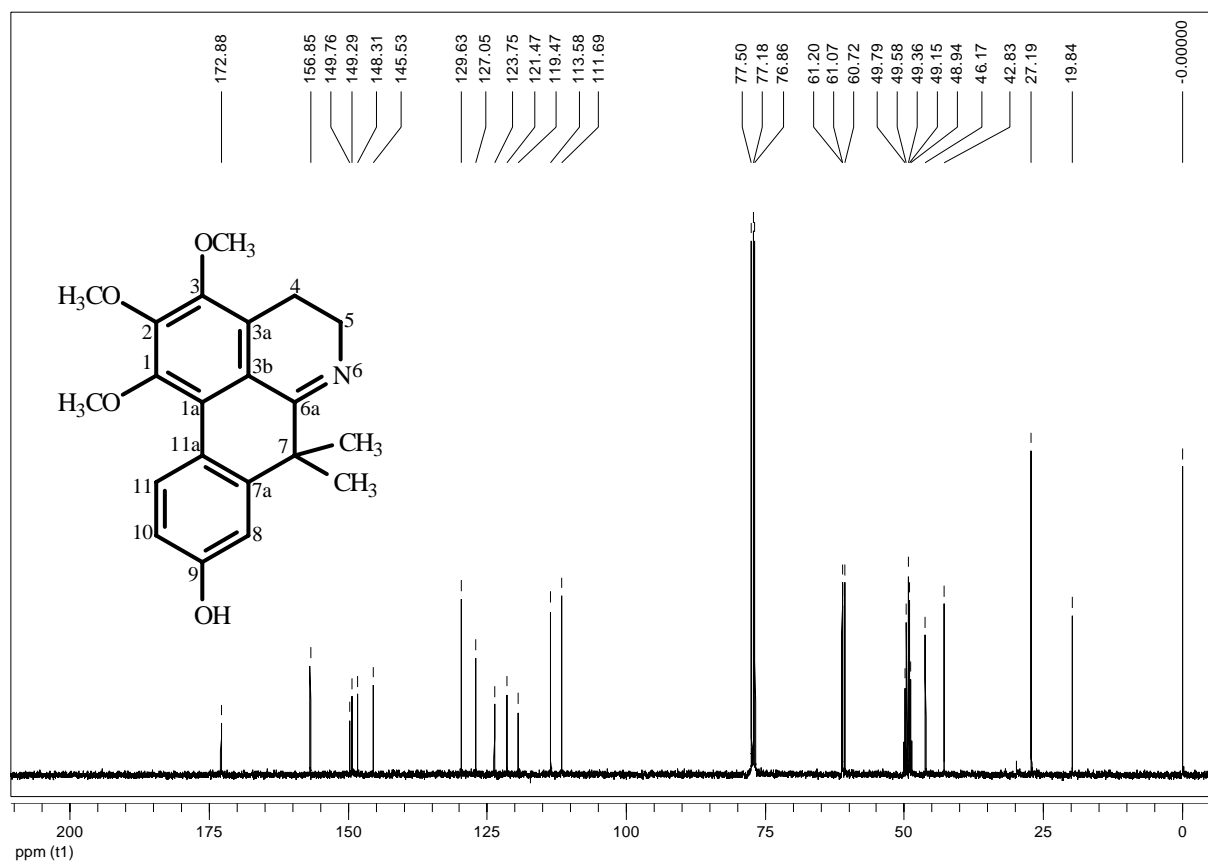
E76. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G27**.



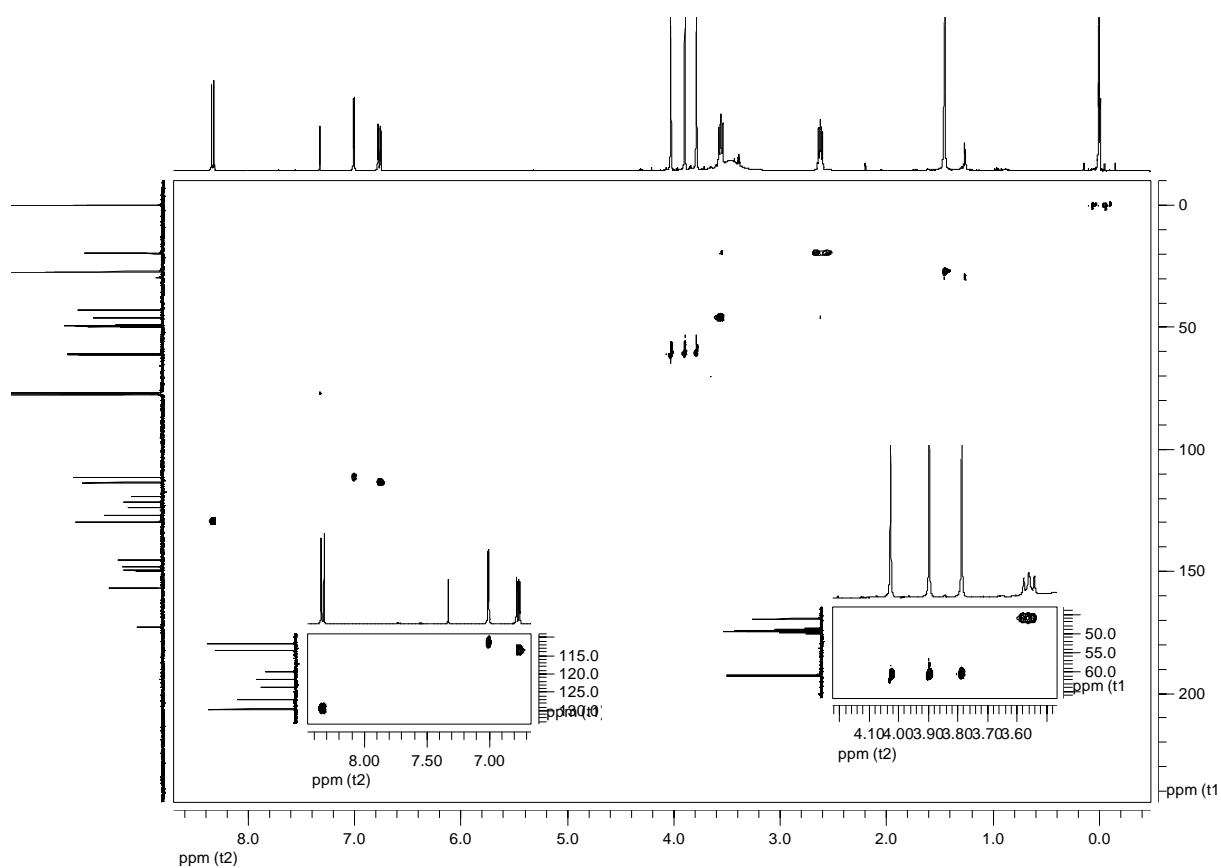
E77. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G27**.



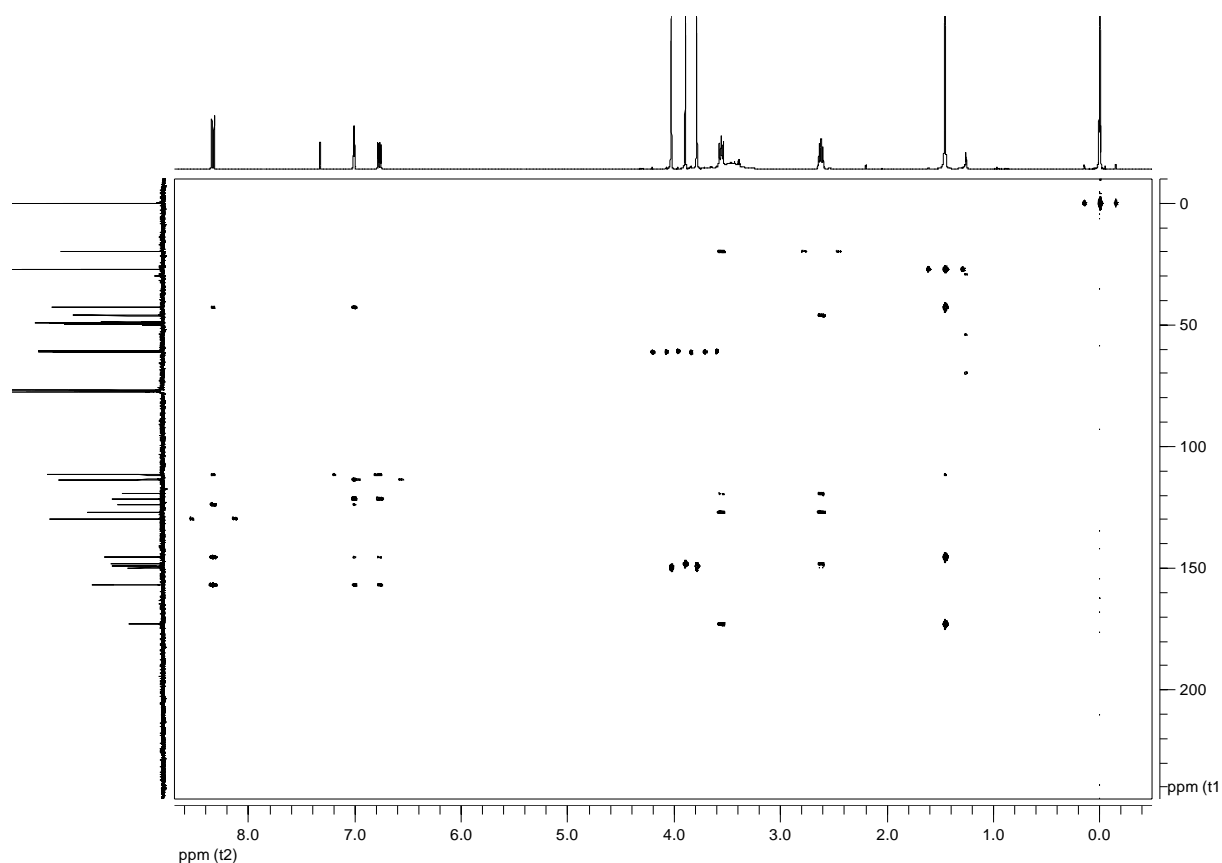
E78. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G27**.



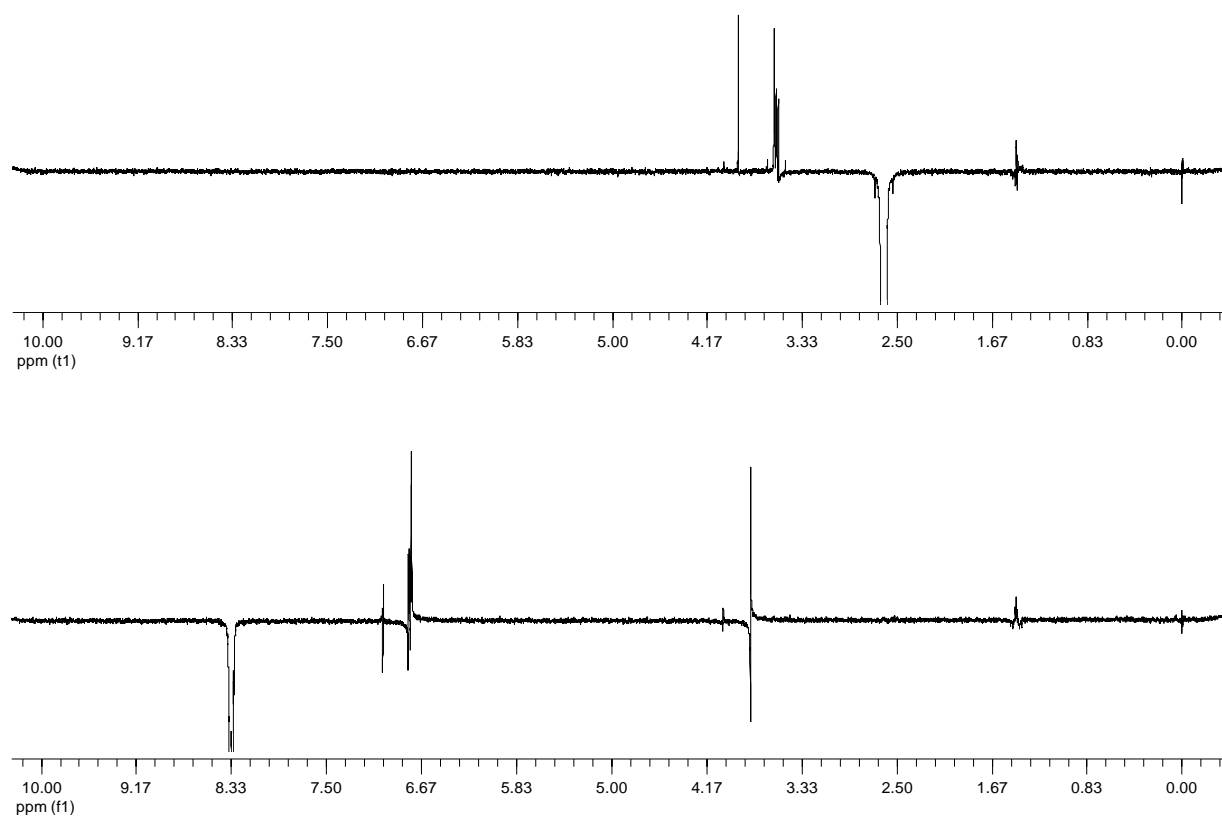
E79. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G27**.



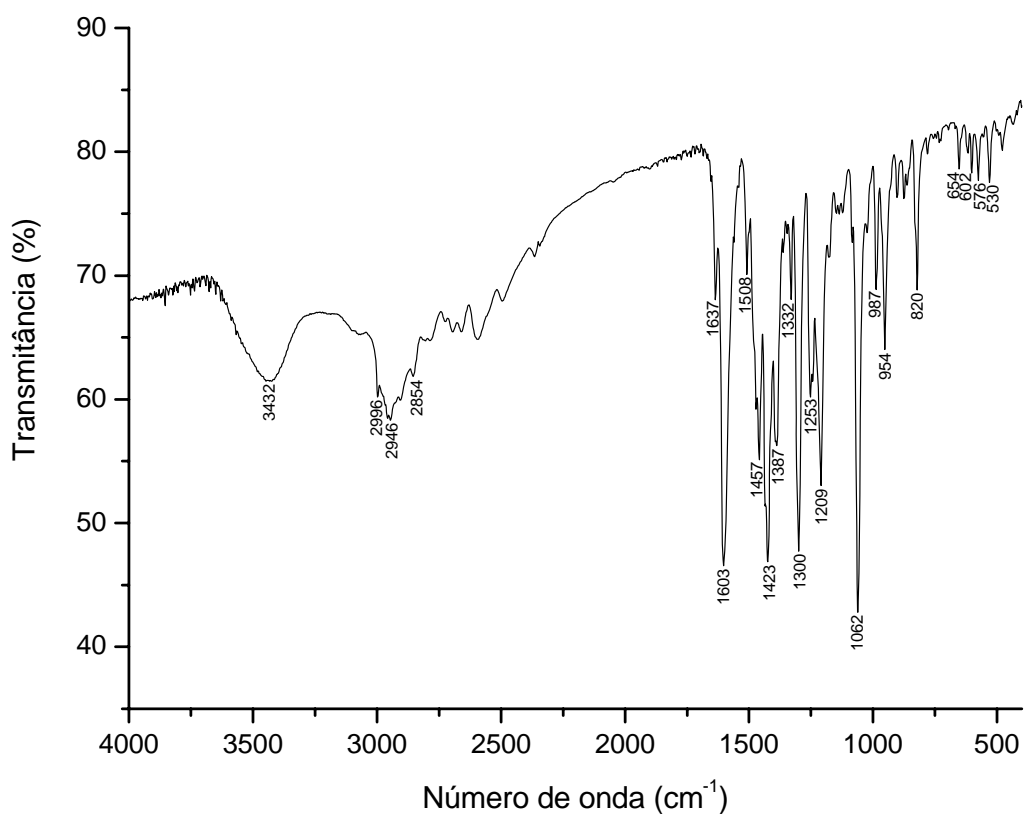
E80. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G27**.



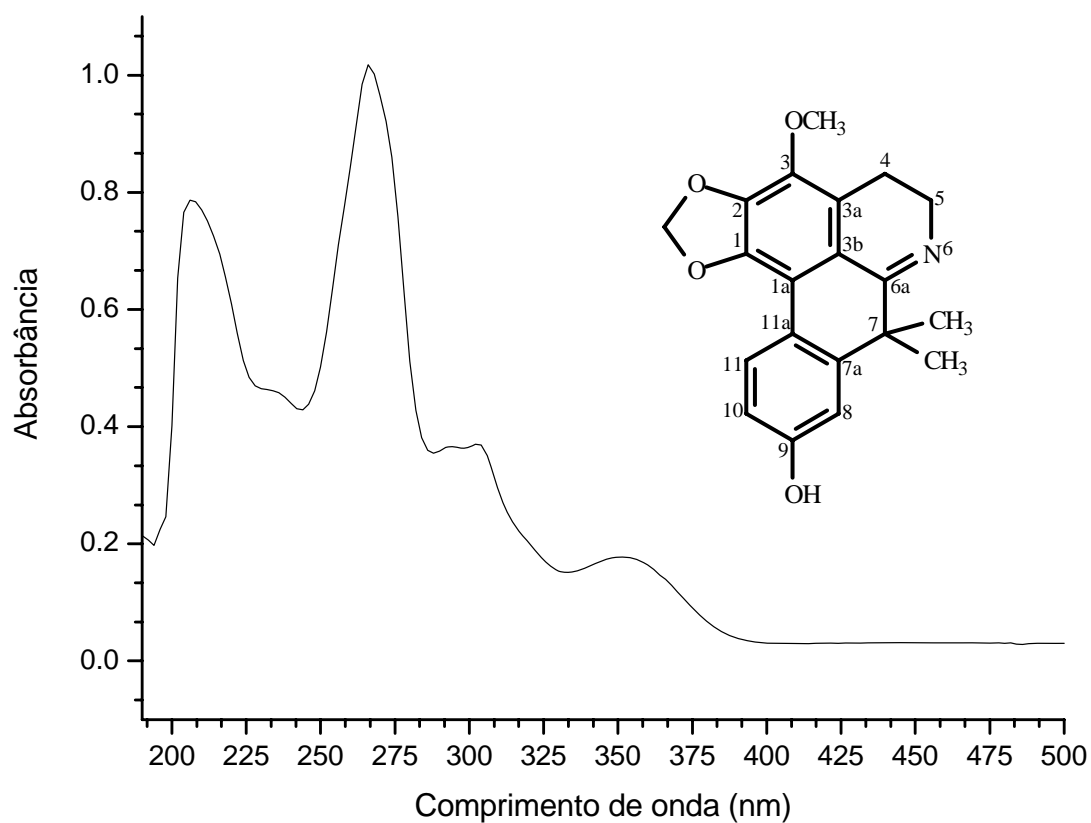
E81. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G27**.



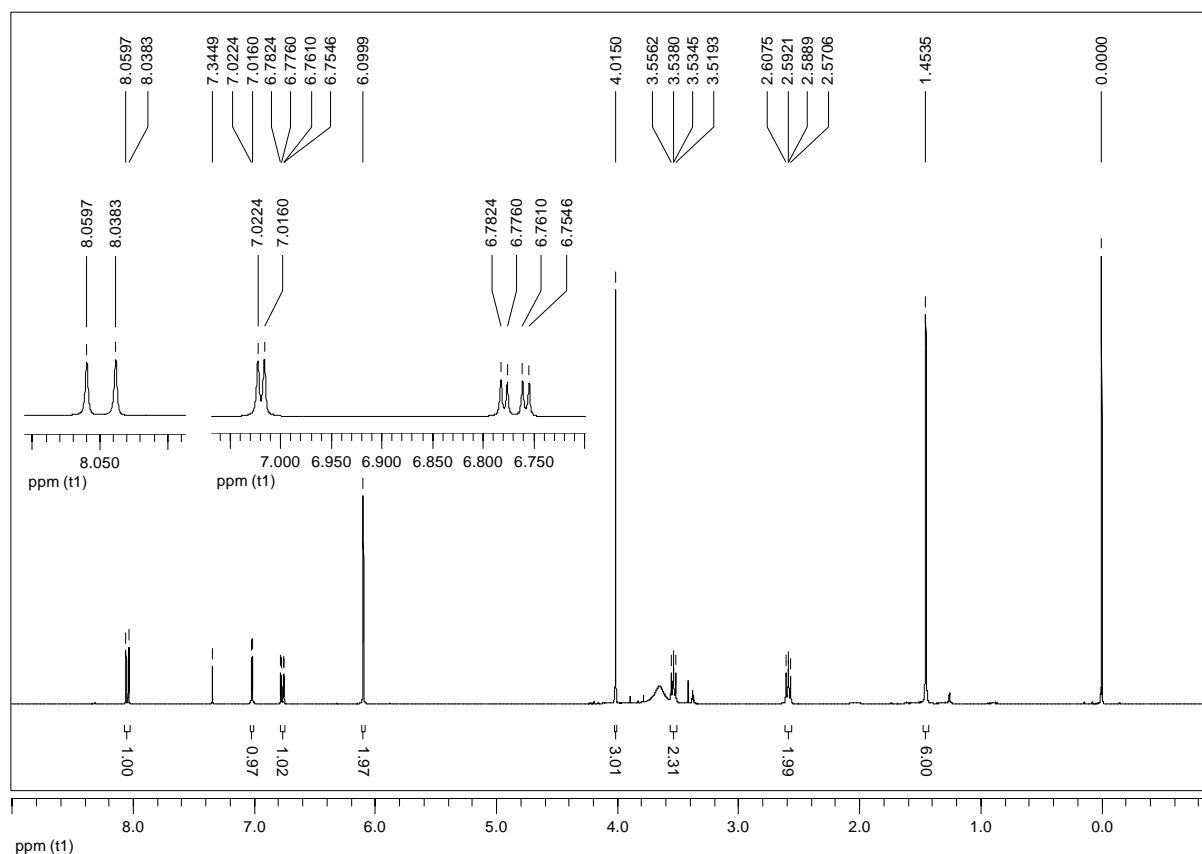
E82. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G27**.



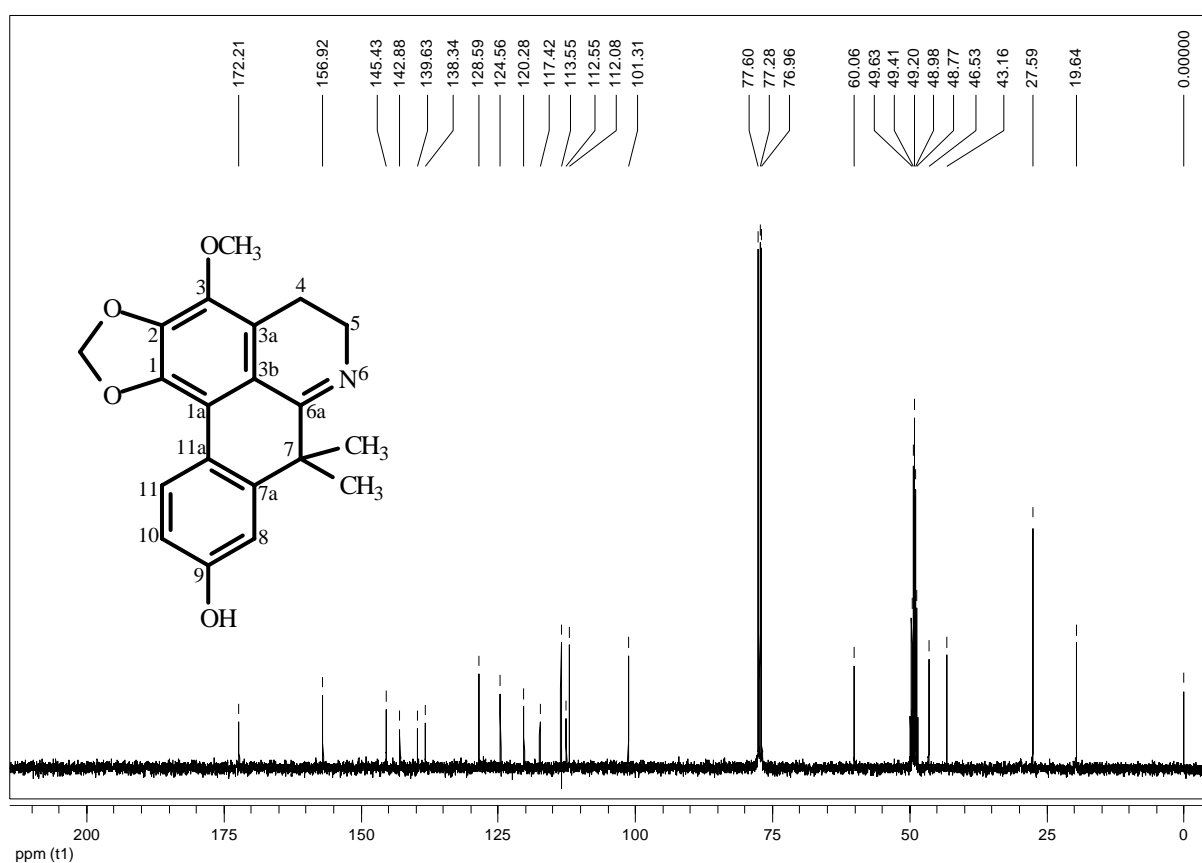
E83. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G29**.



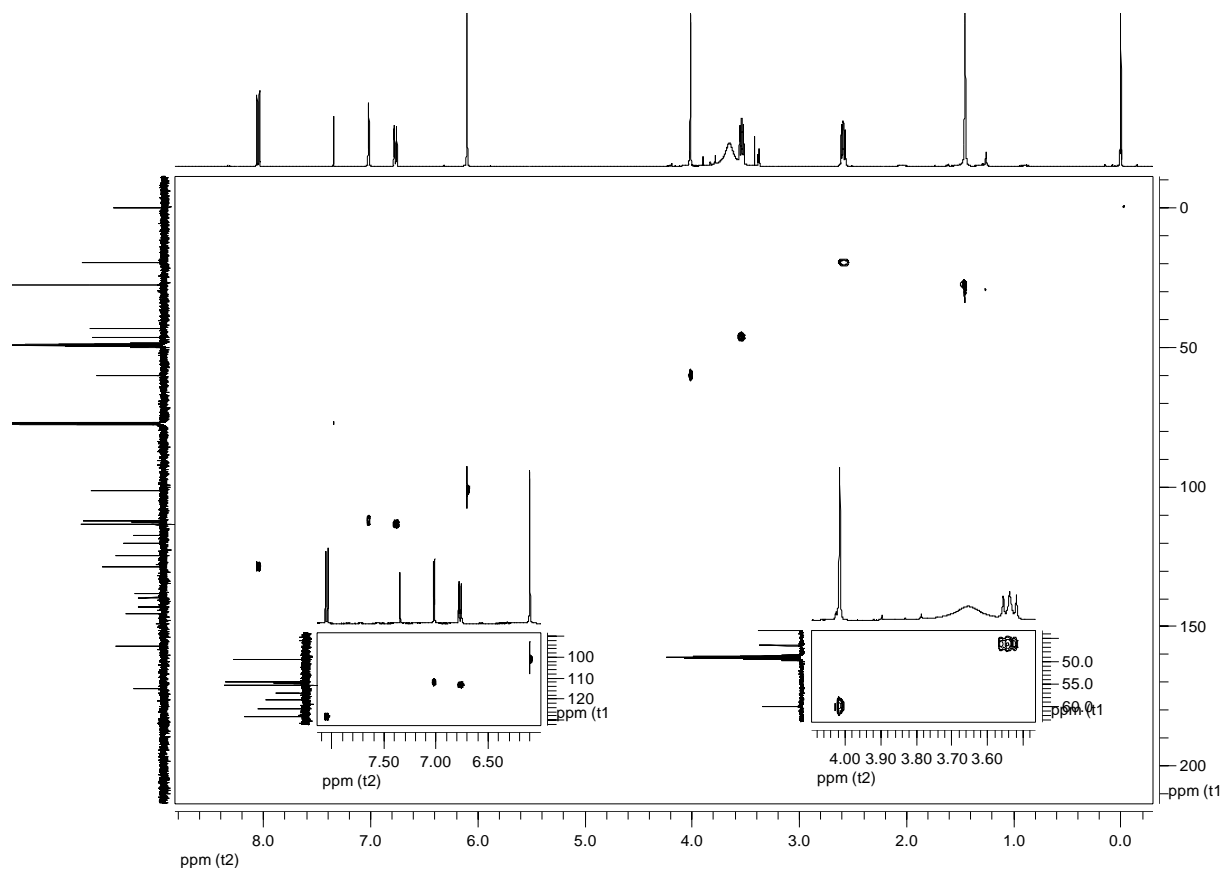
E84. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G29**.



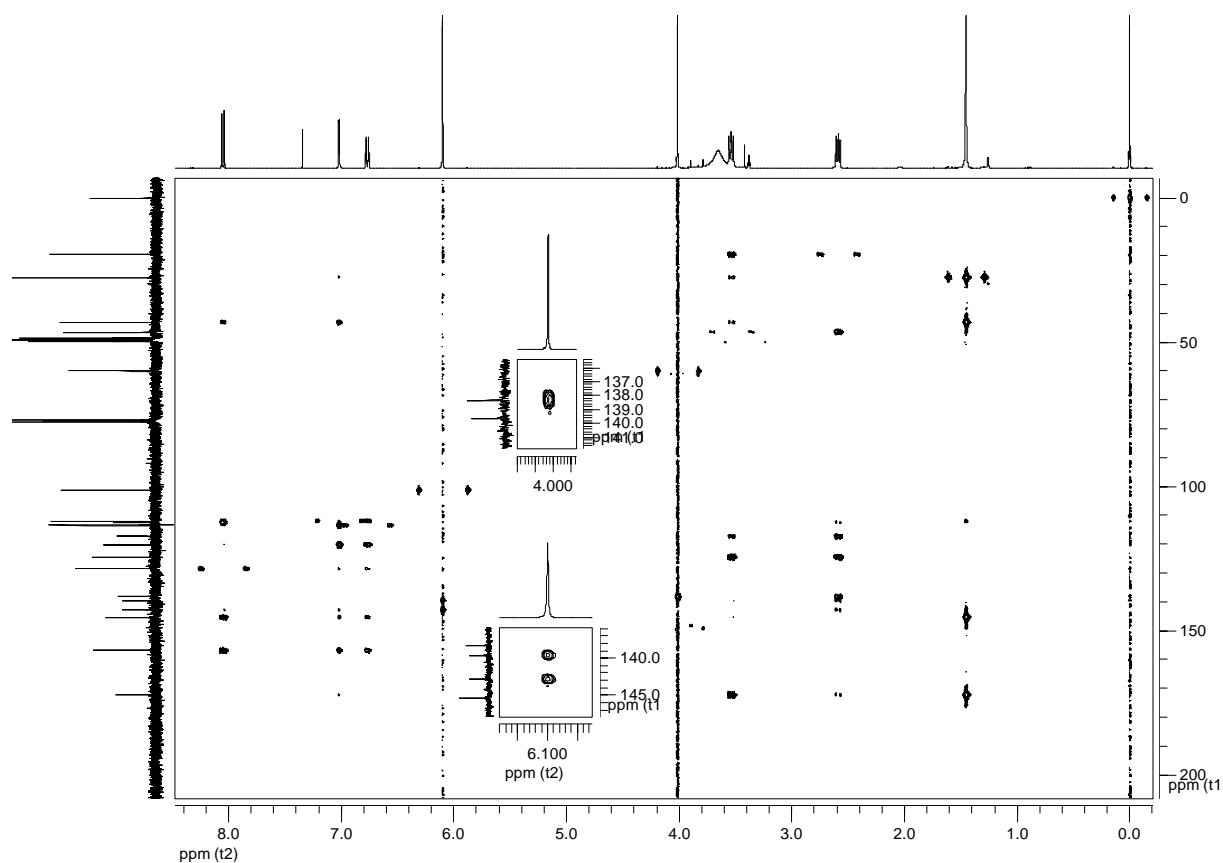
E85. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G29**.



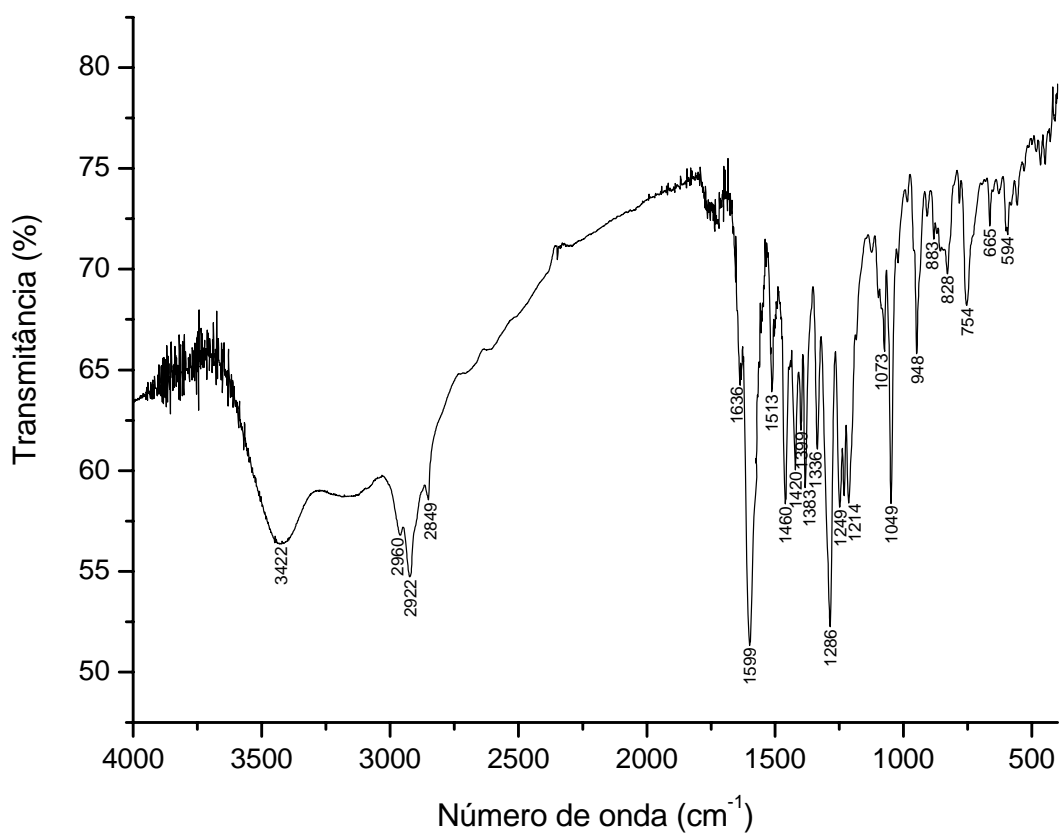
E86. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G29**.



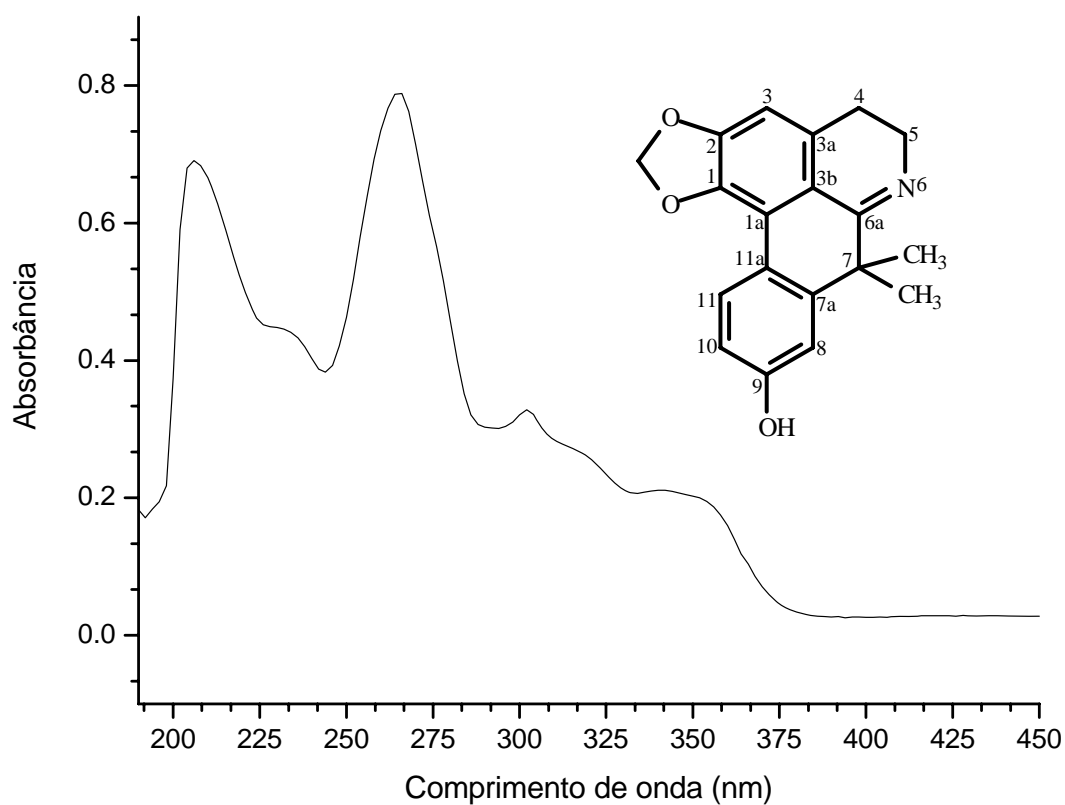
E87. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G29**.



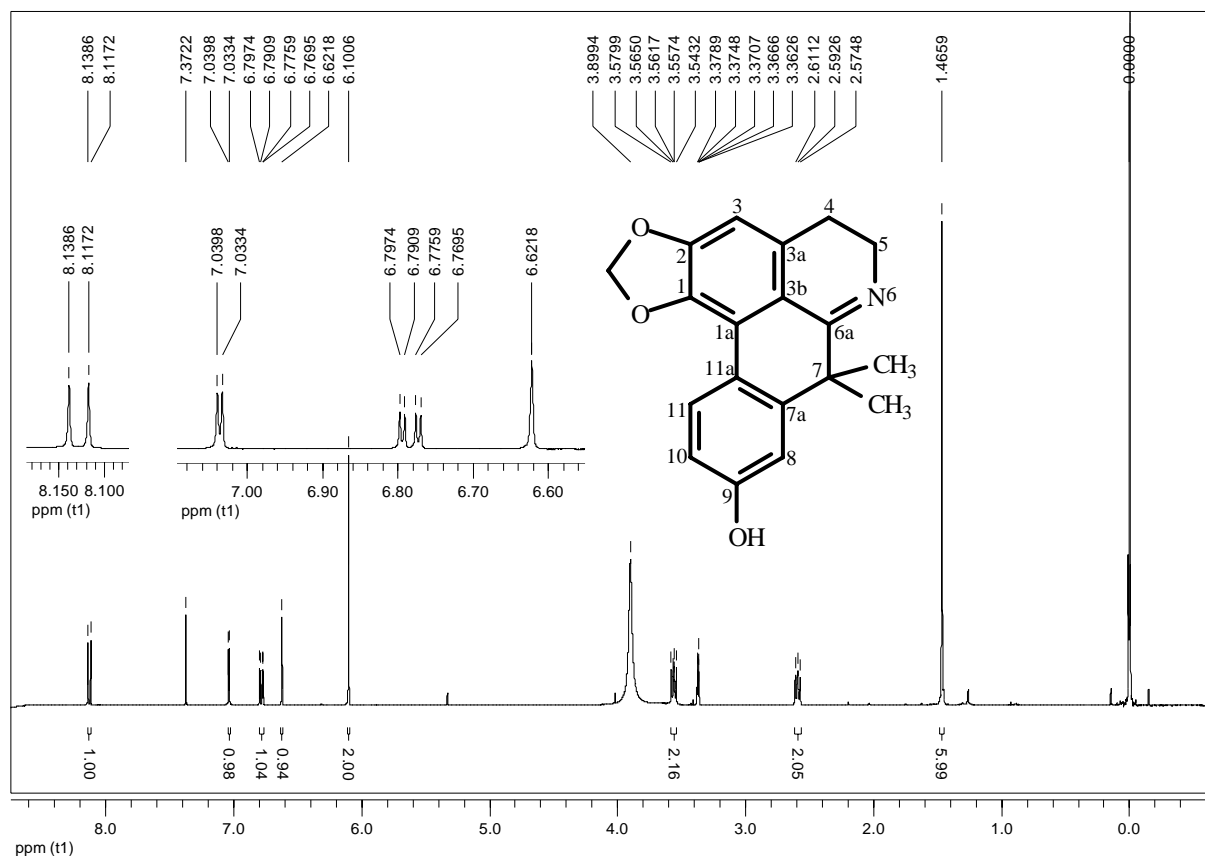
E88. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G29**.



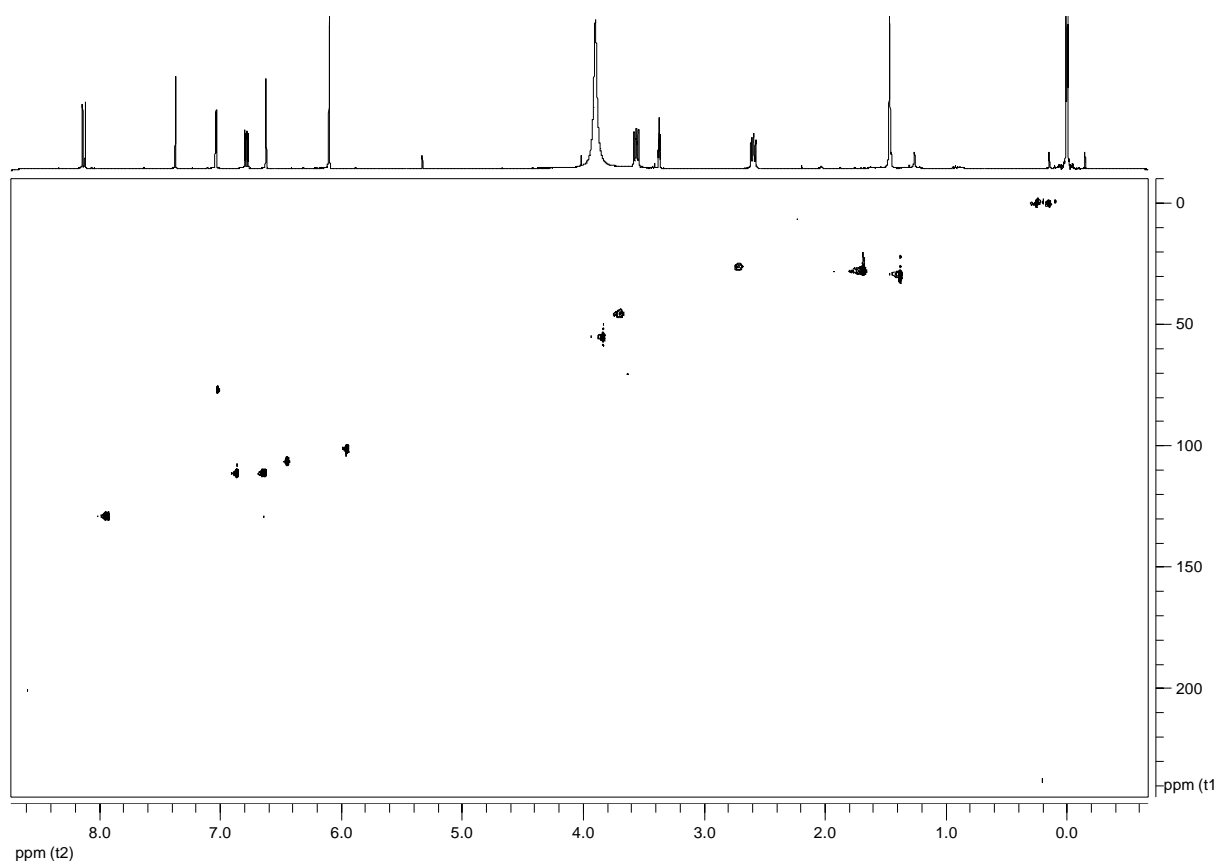
E89. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G30**.



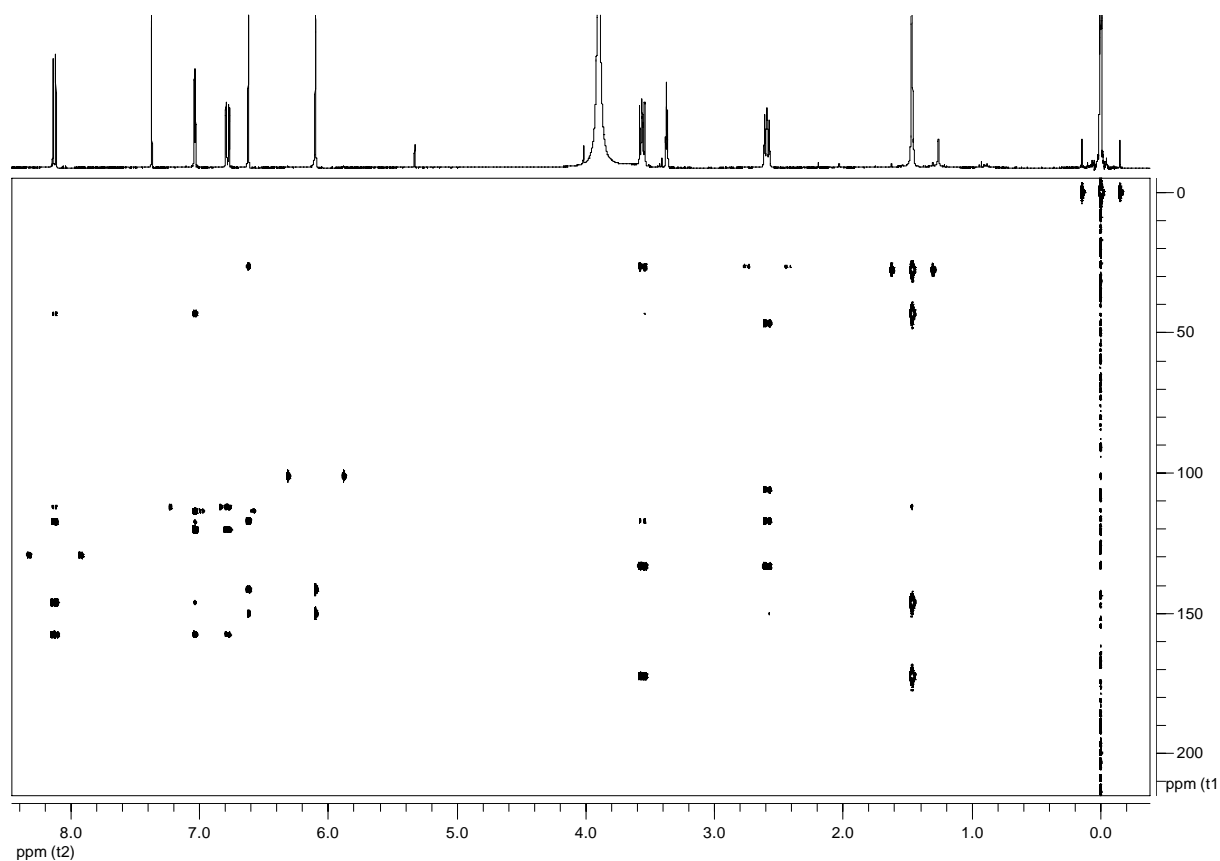
E90. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G30**.



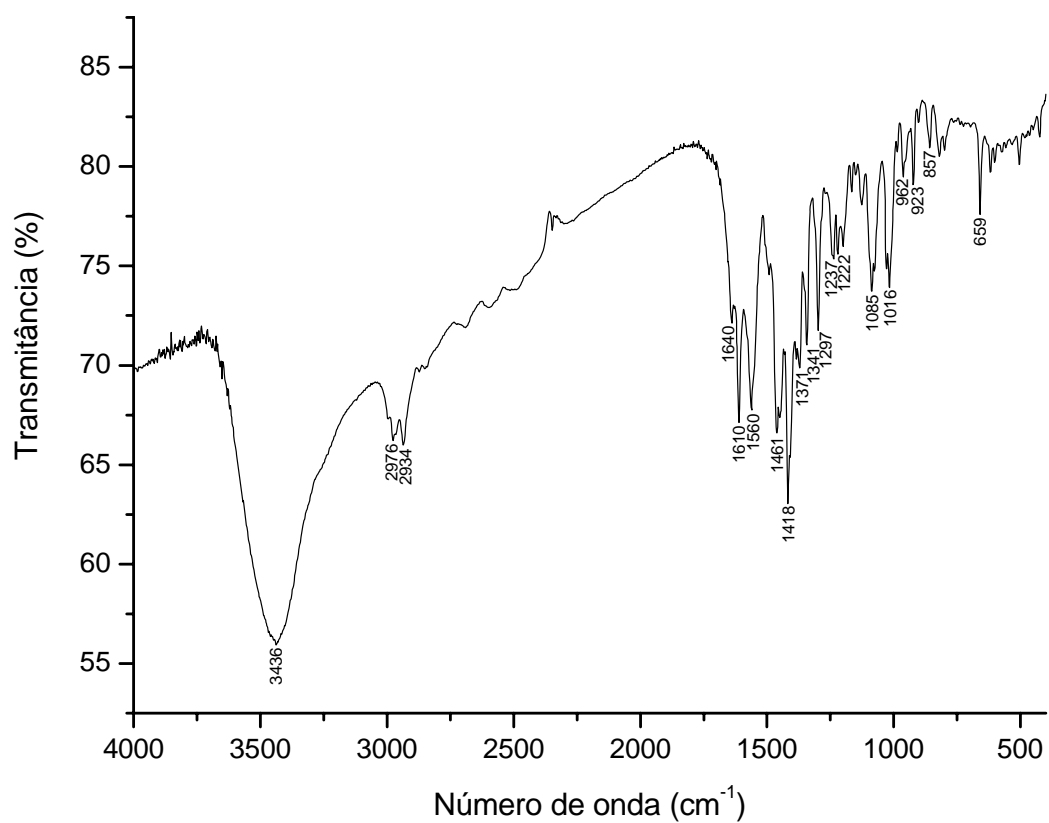
E91. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G30**.



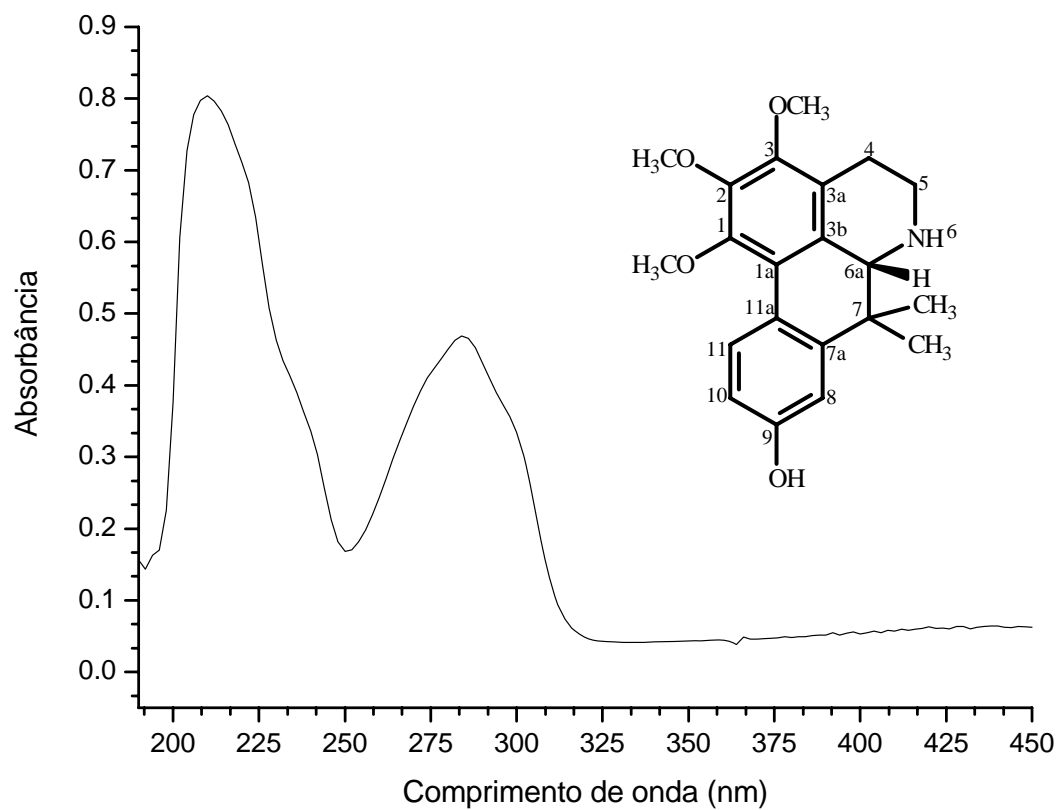
E92. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G30**.



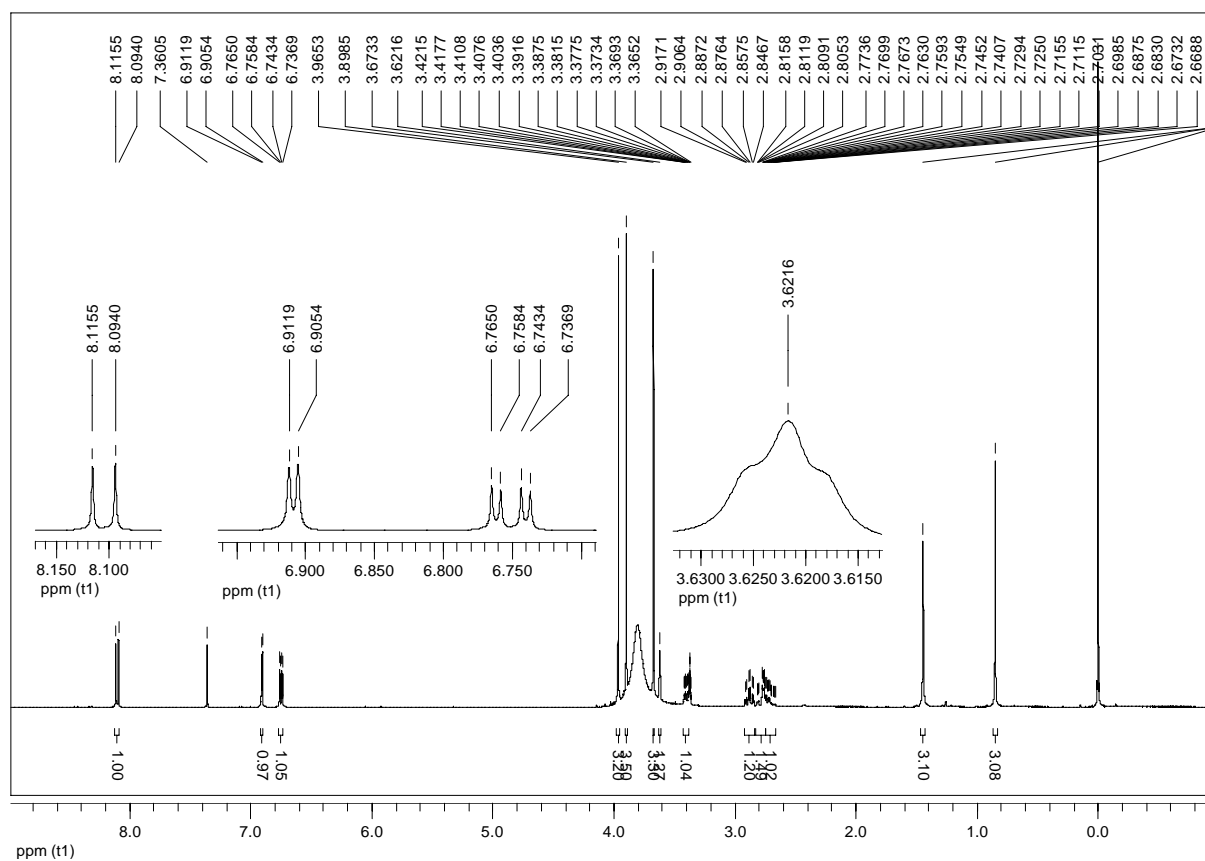
E93. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G30**.



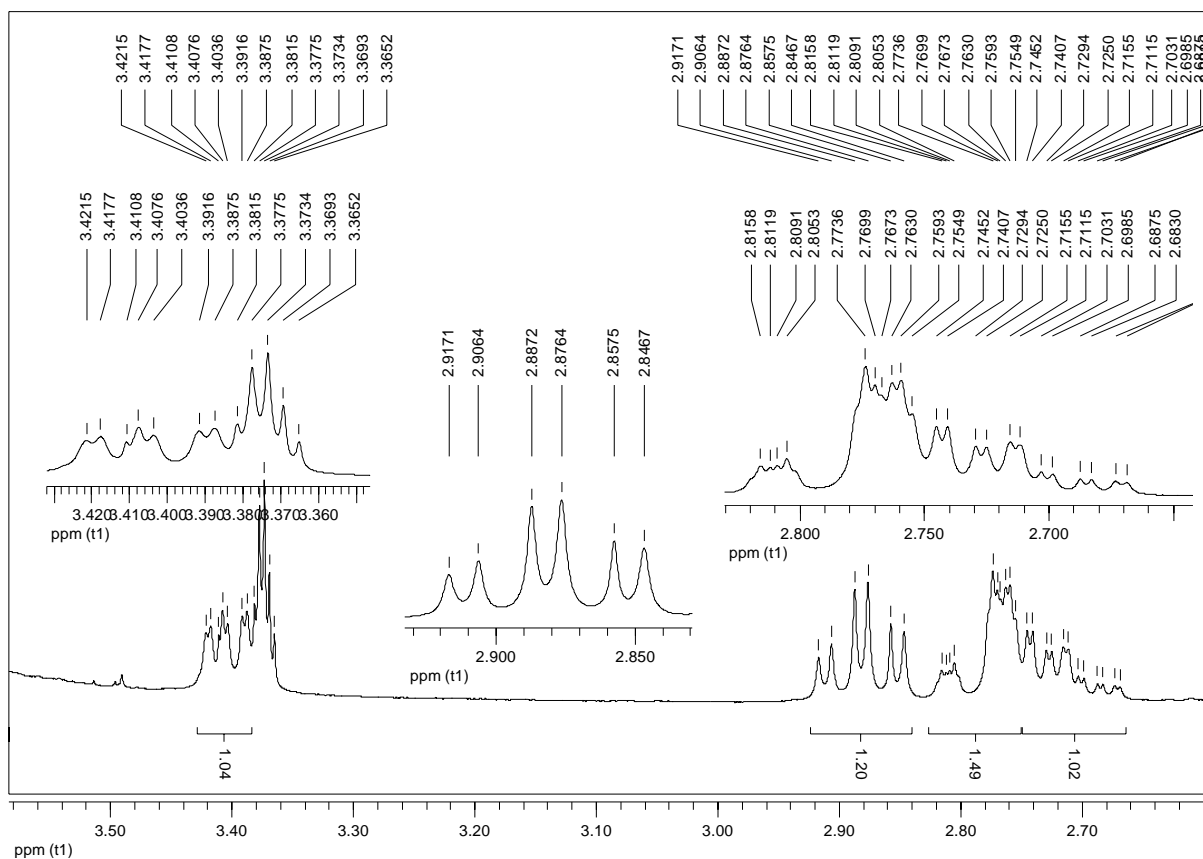
E94. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G31**.



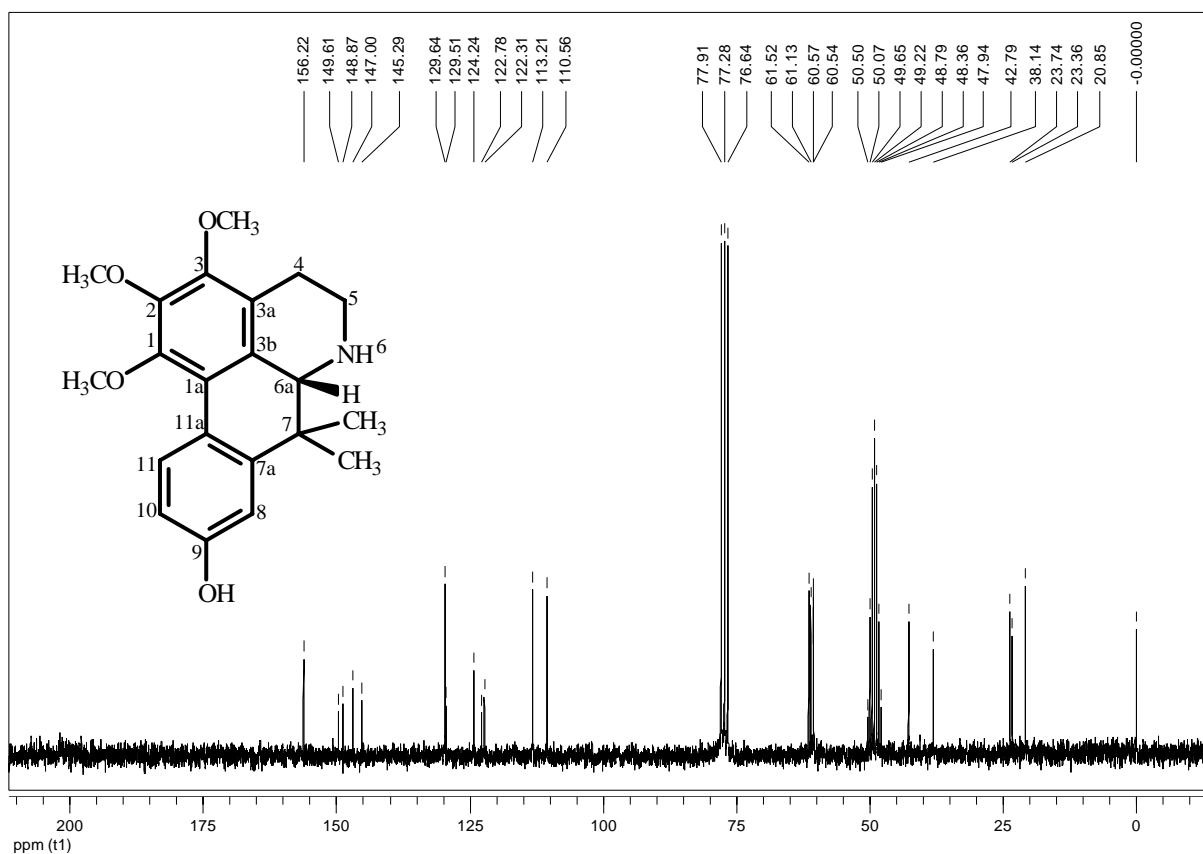
E95. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G31**.



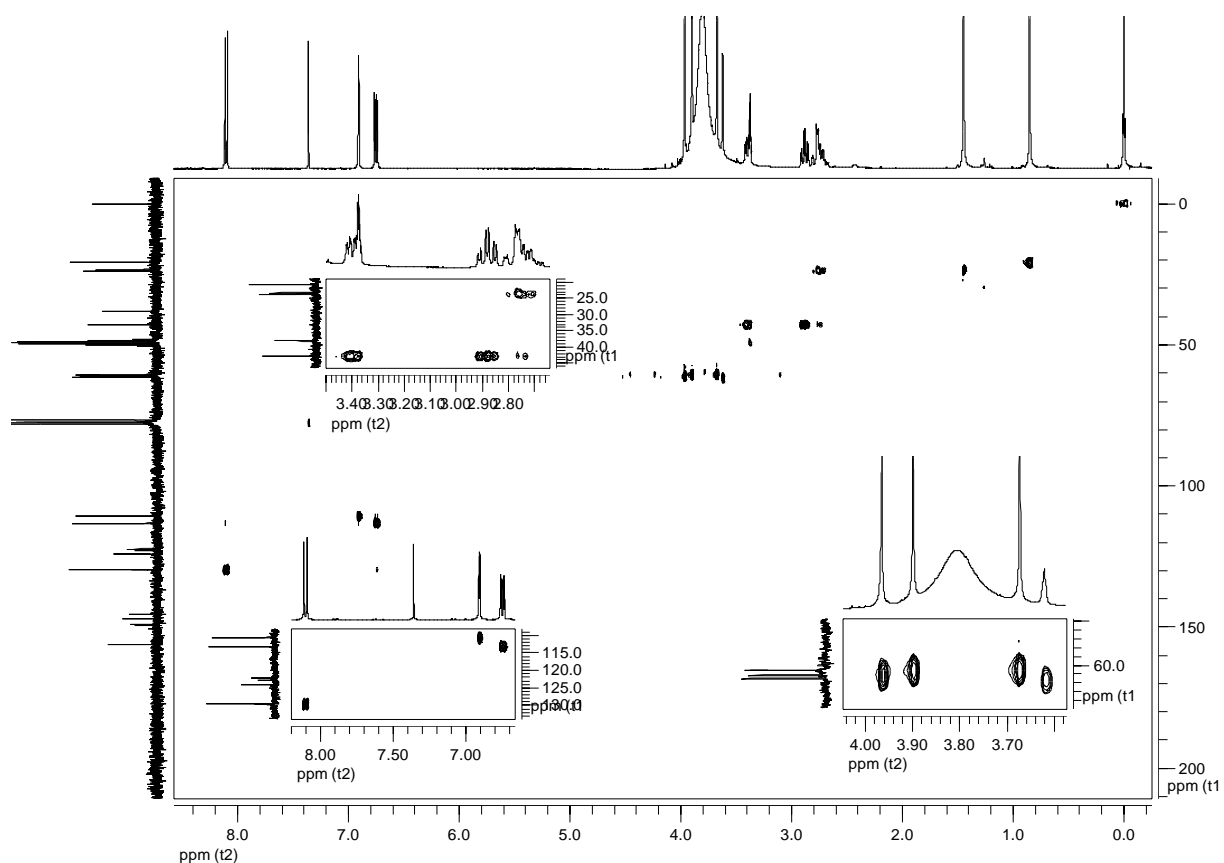
E96. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G31**.



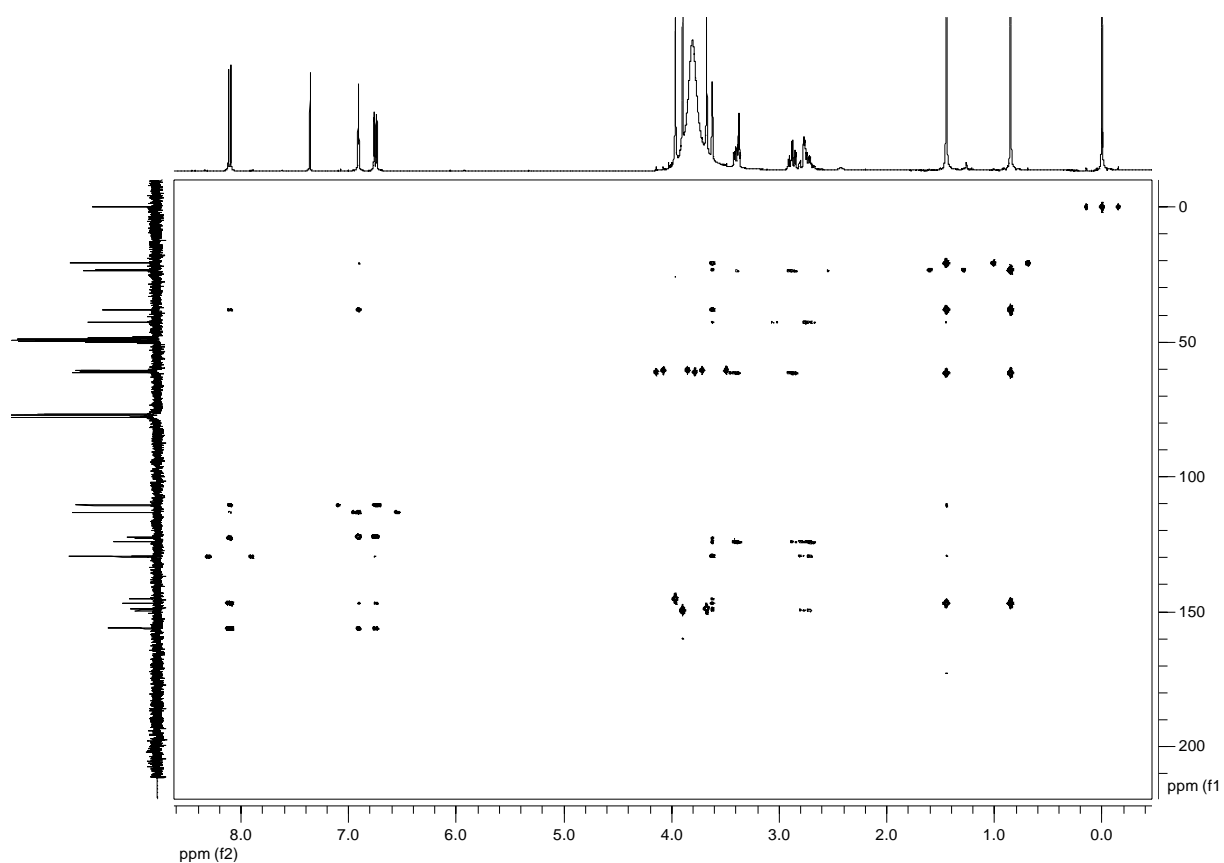
E97. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G31**.



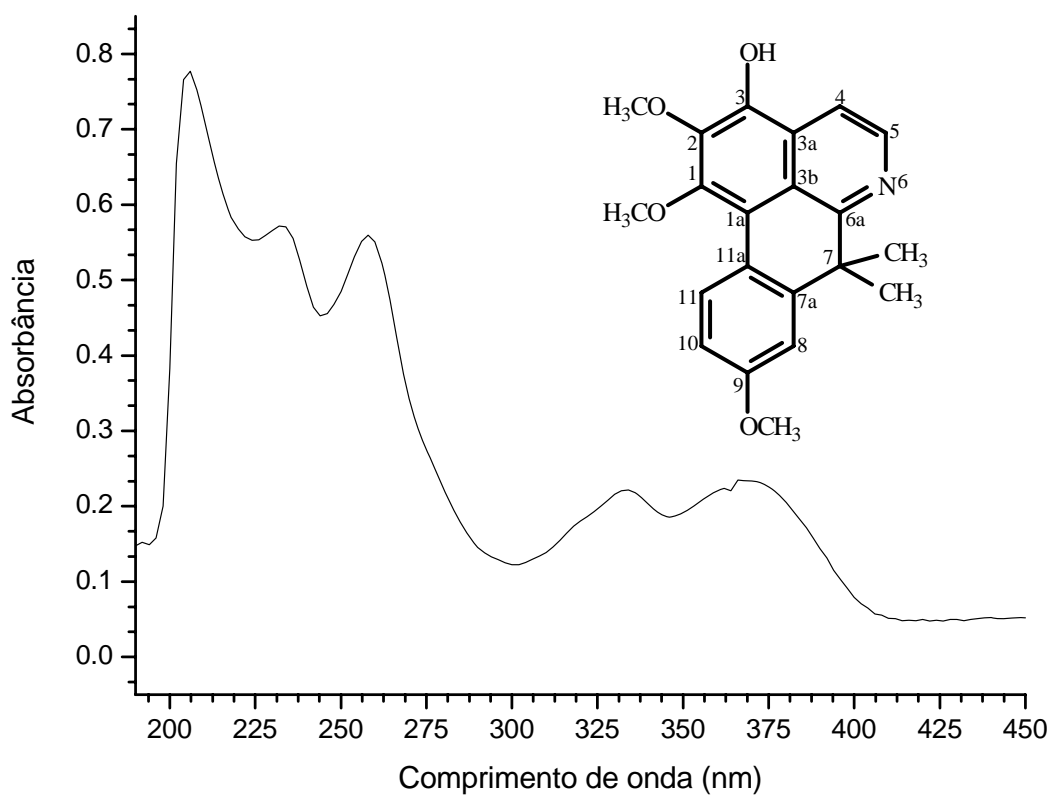
E98. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G31**.



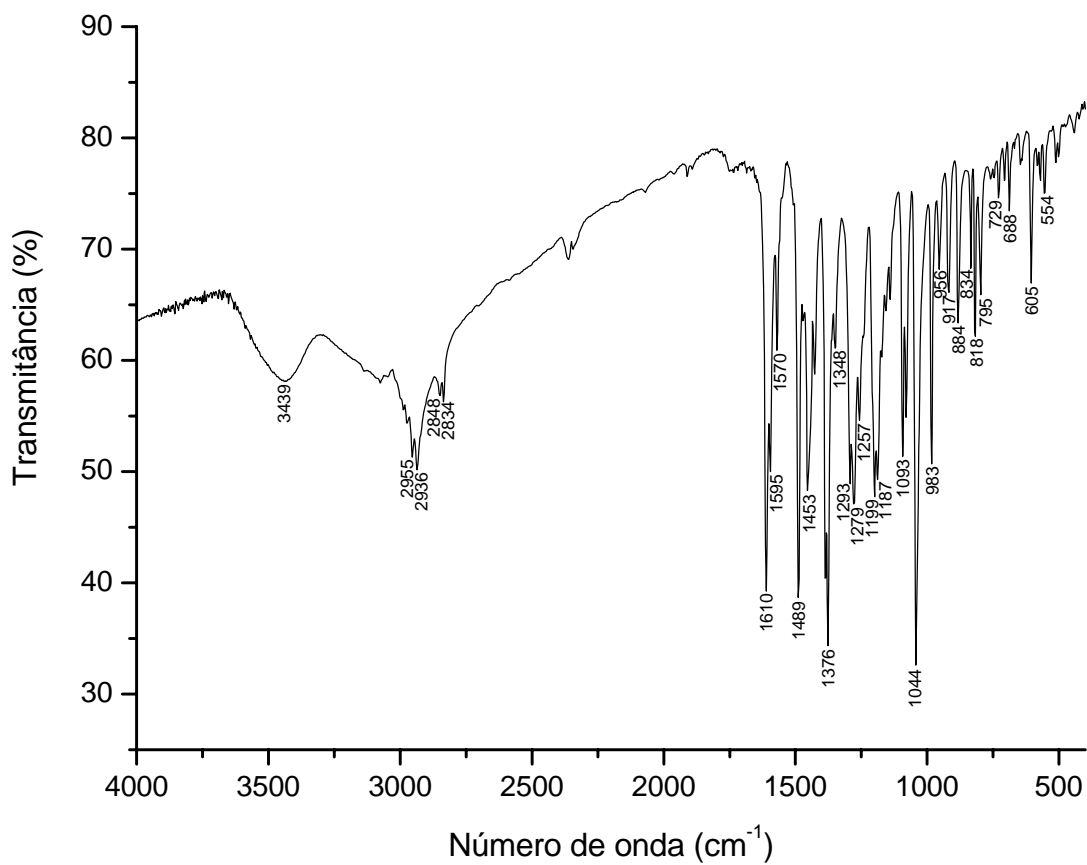
E99. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G31**.



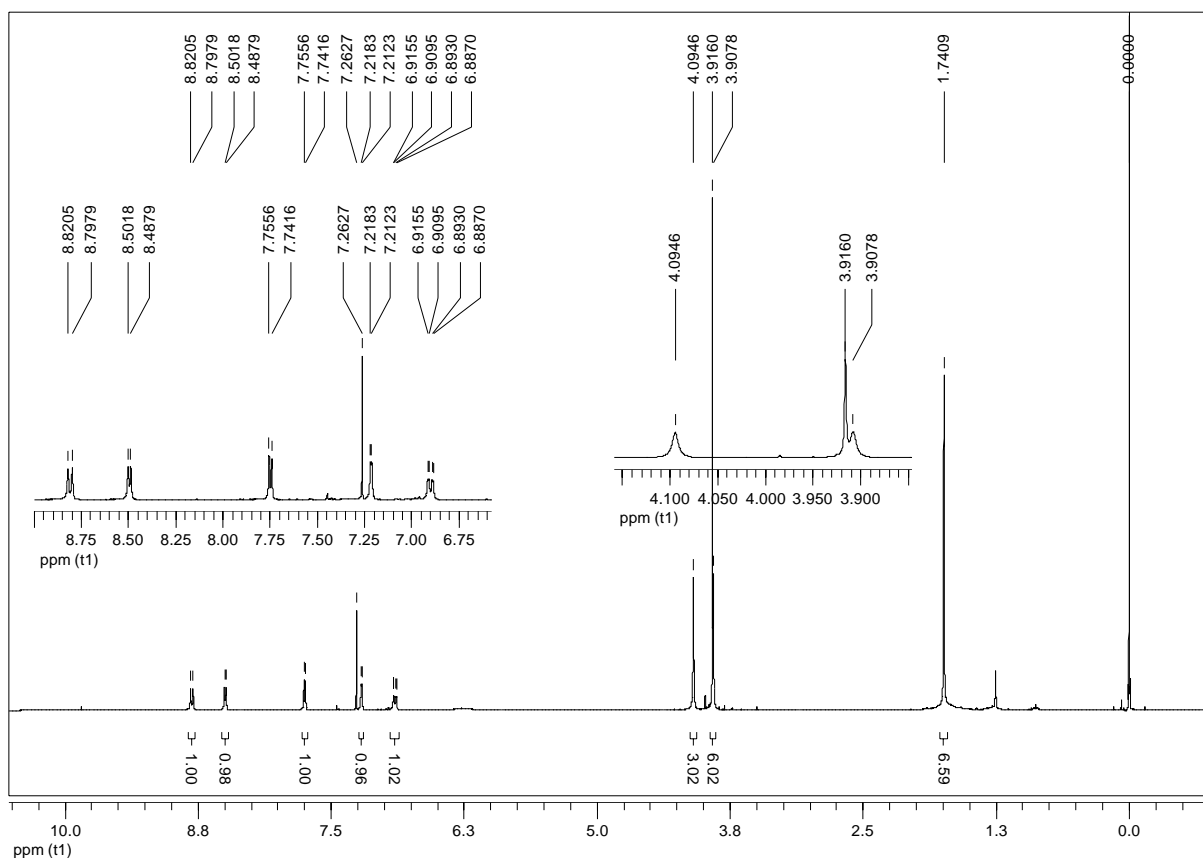
E100. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G31**.



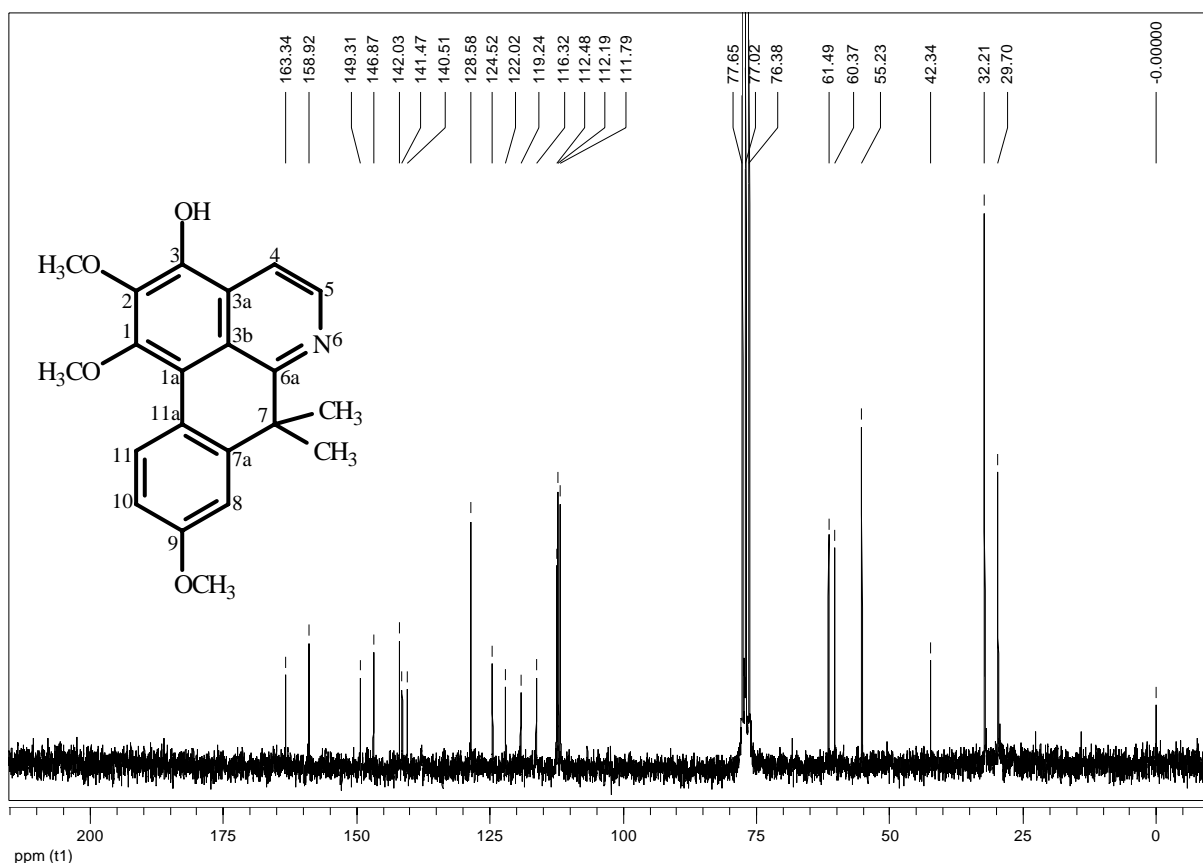
E101. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G32**.



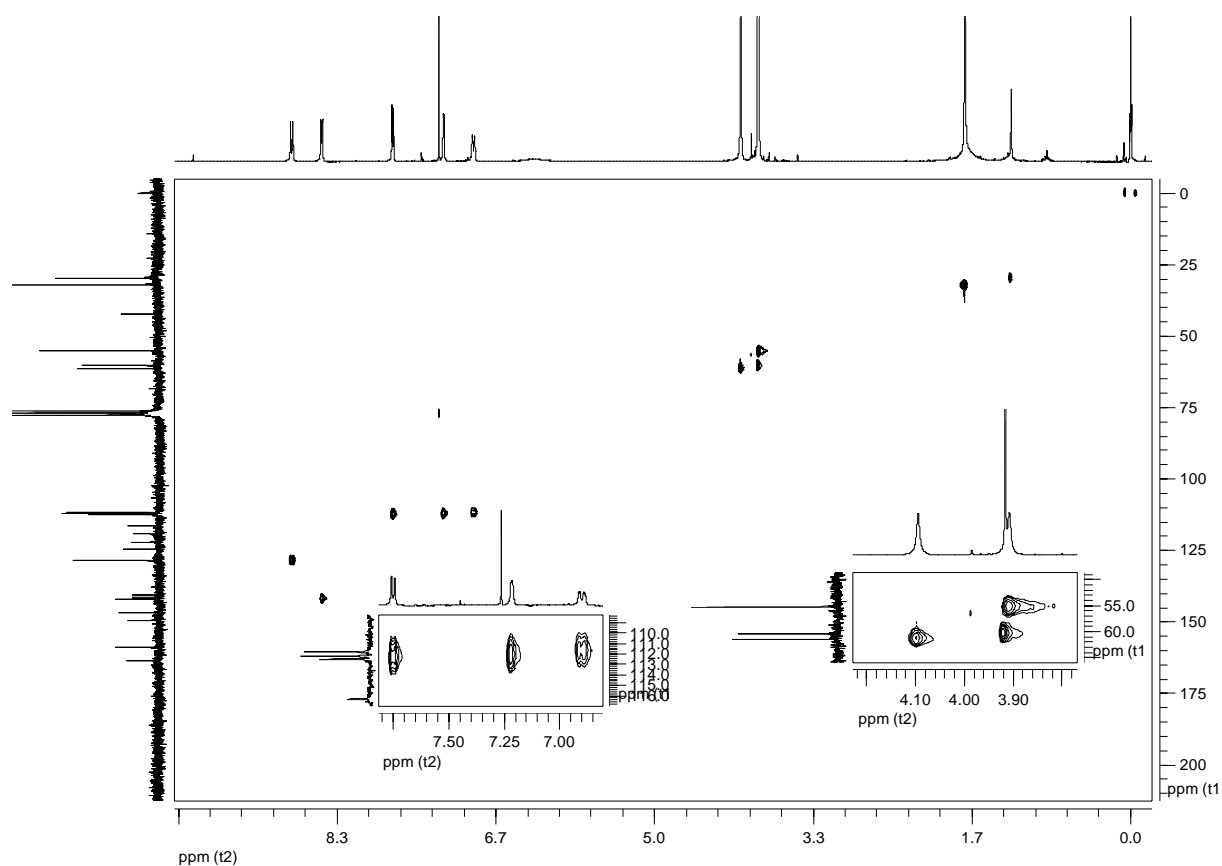
E102. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G32**.



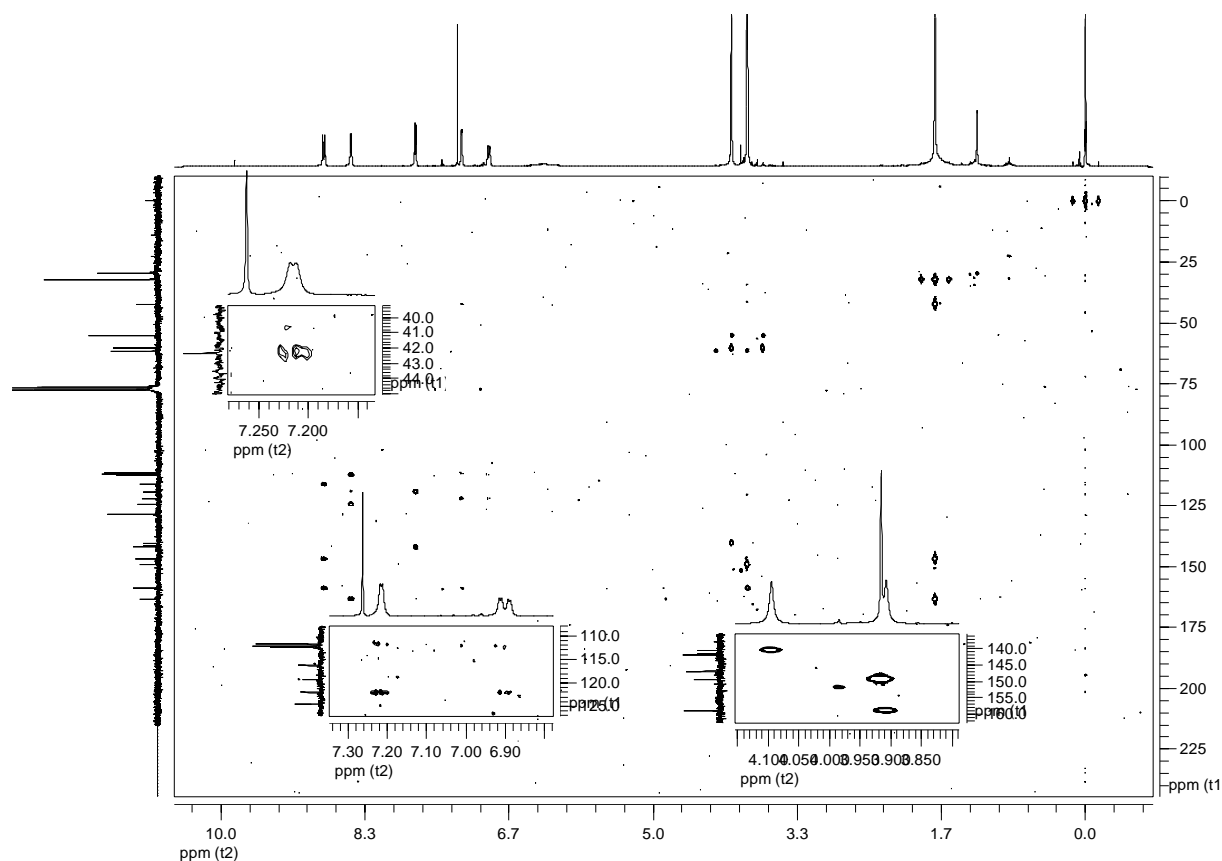
E103. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G32**.



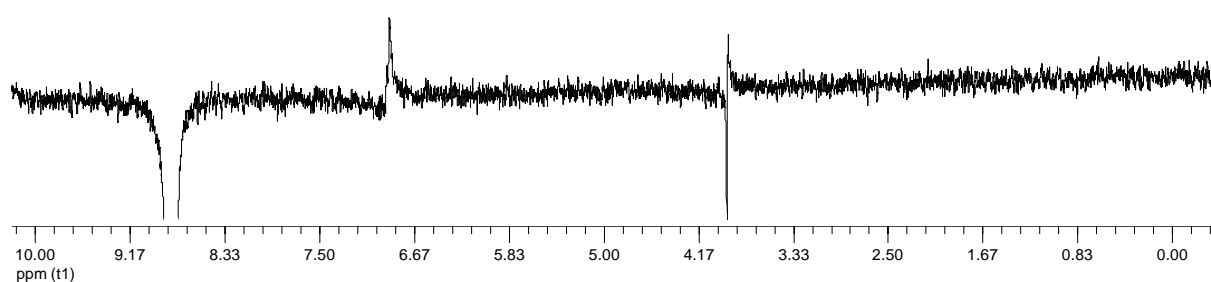
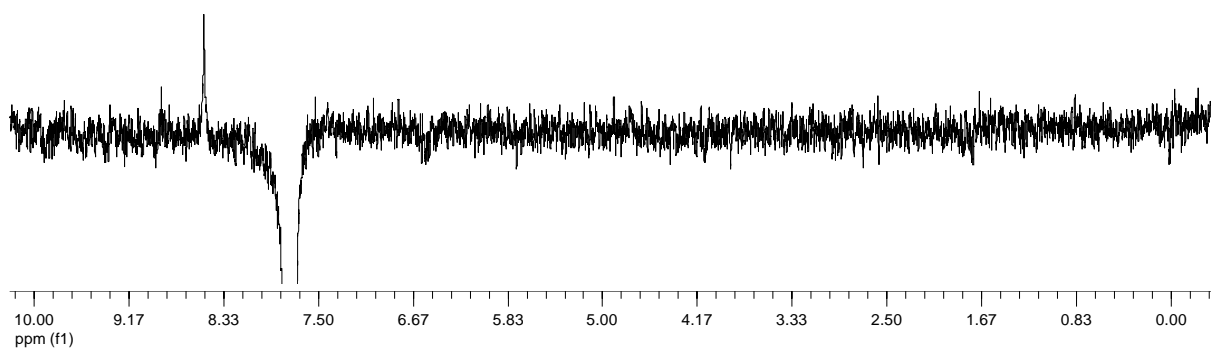
E104. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G32**.



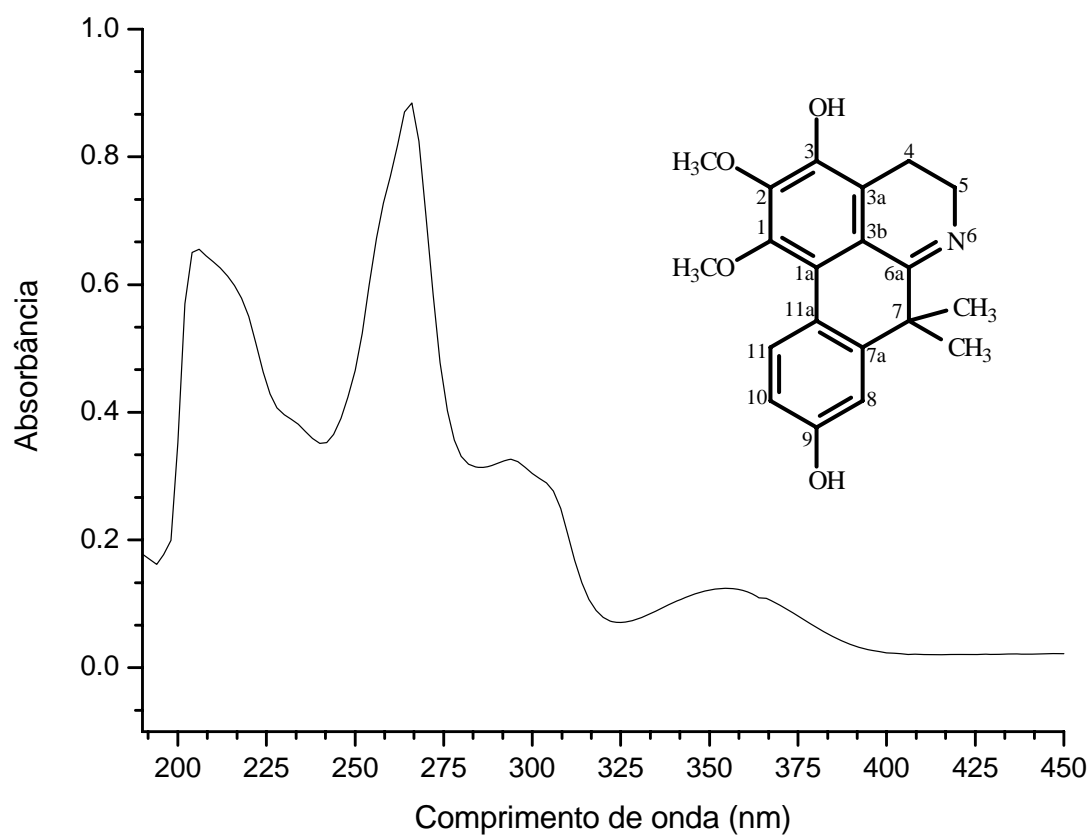
E105. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G32**.



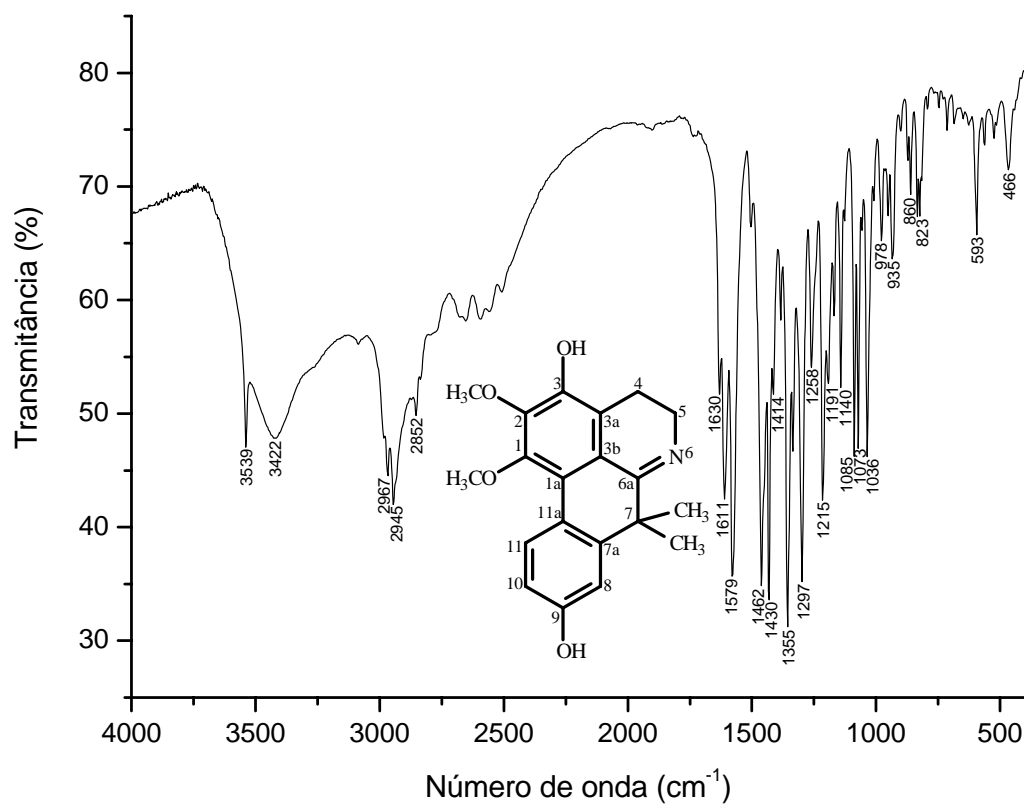
E106. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G32**.



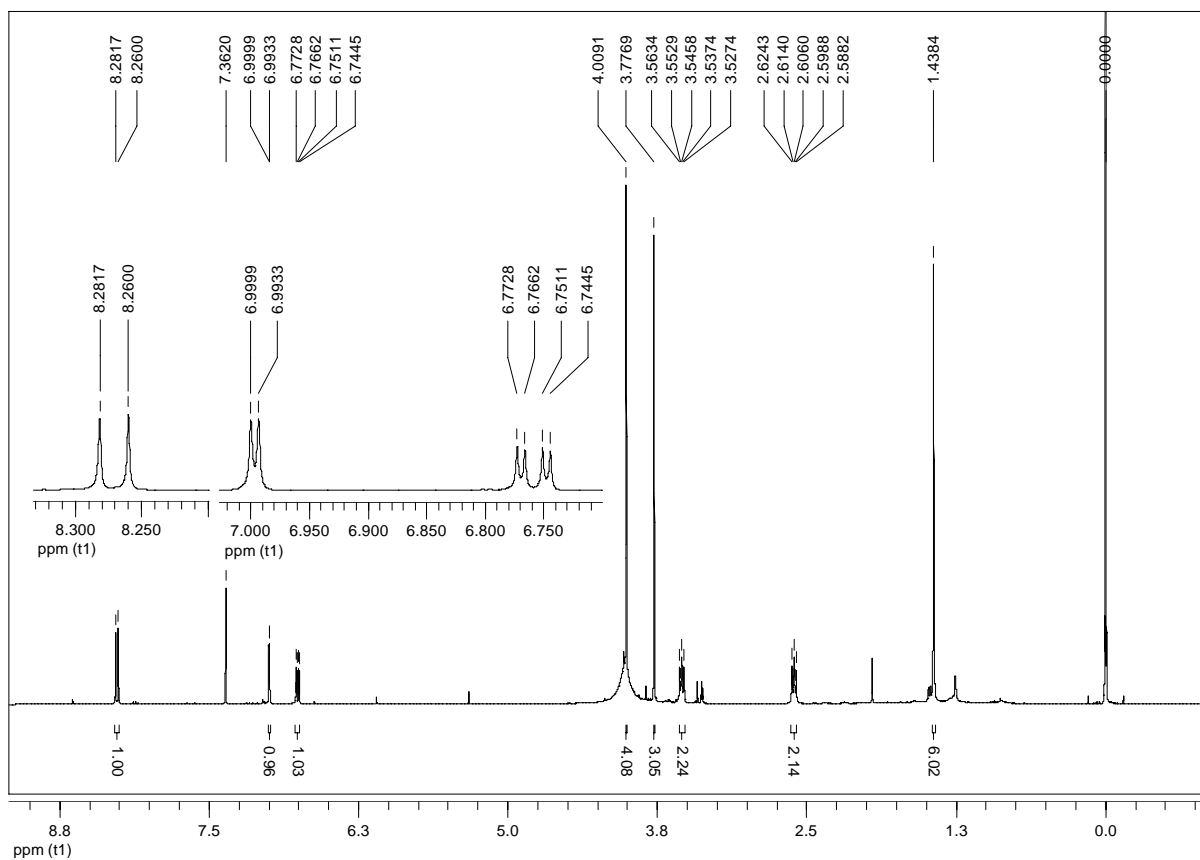
E107. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de **G32**.



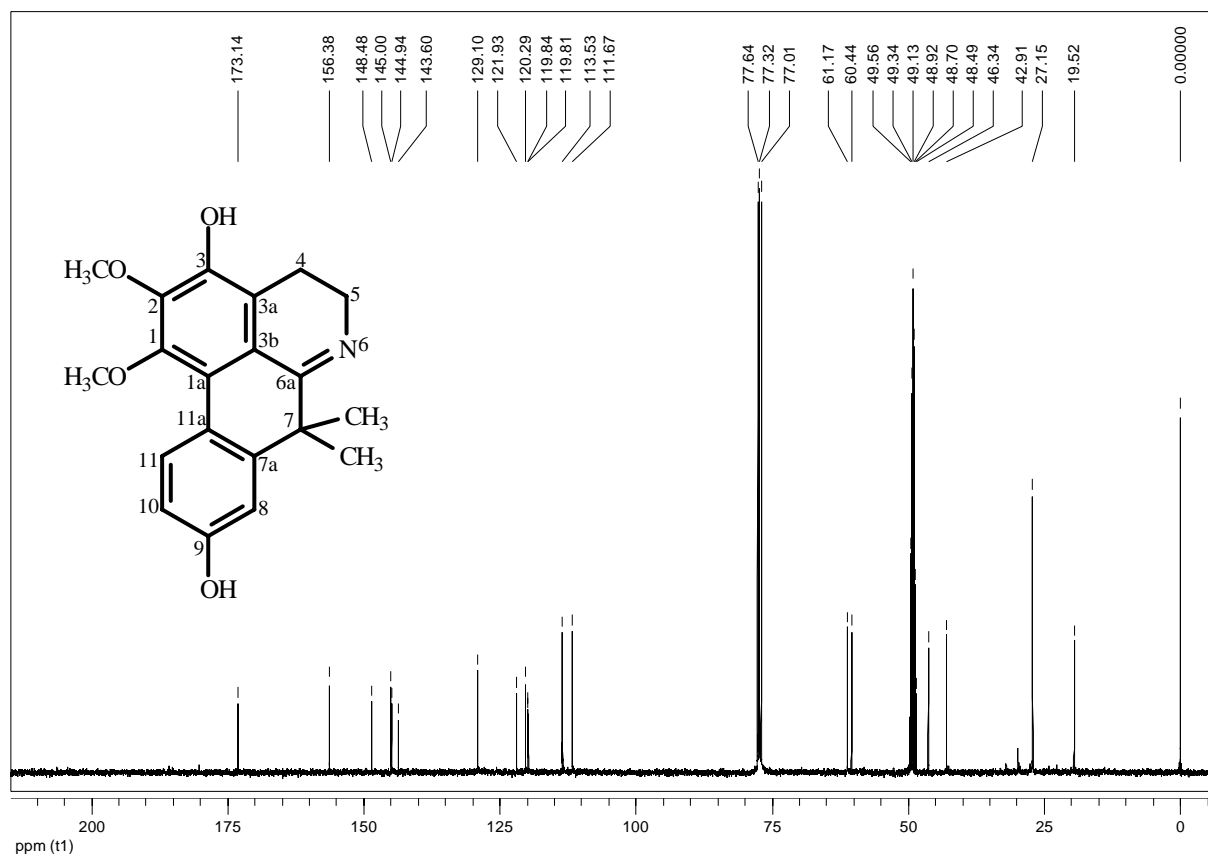
E108. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G33**.



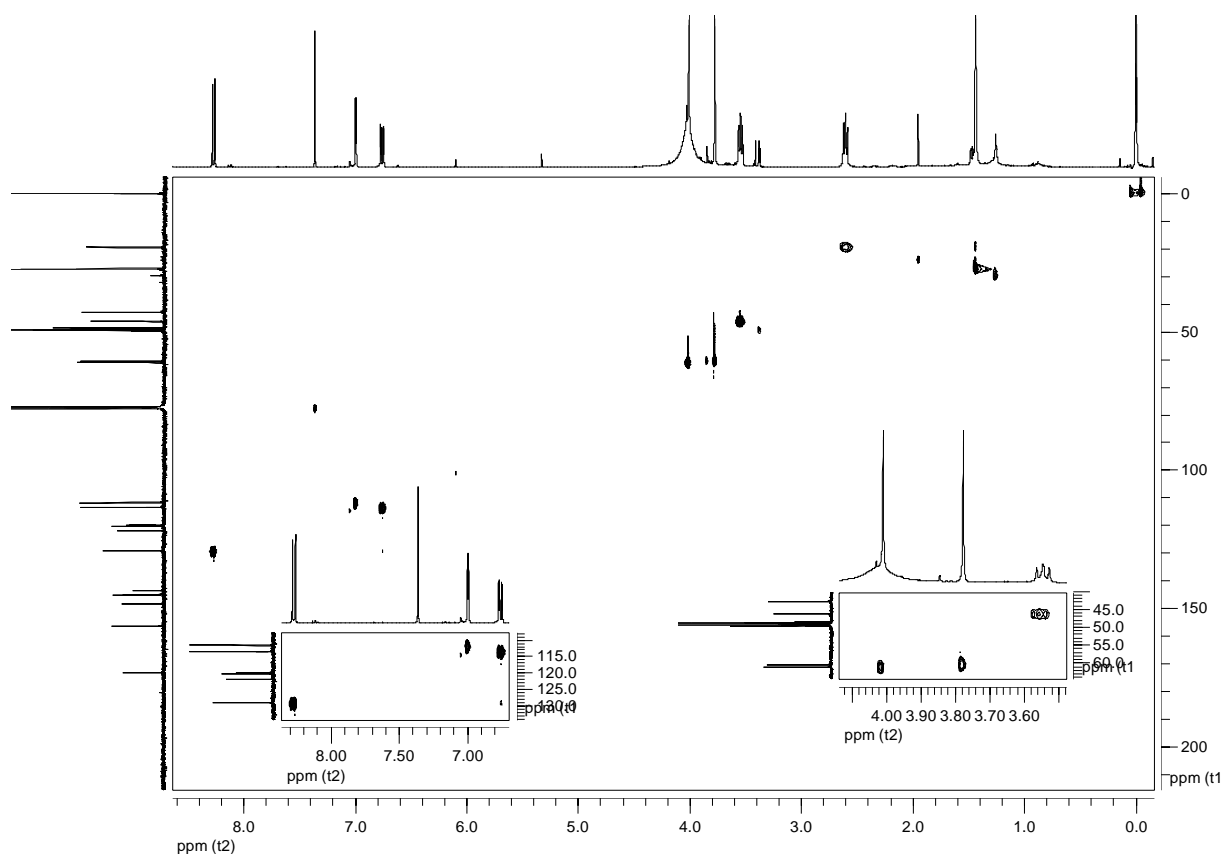
E109. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G33**.



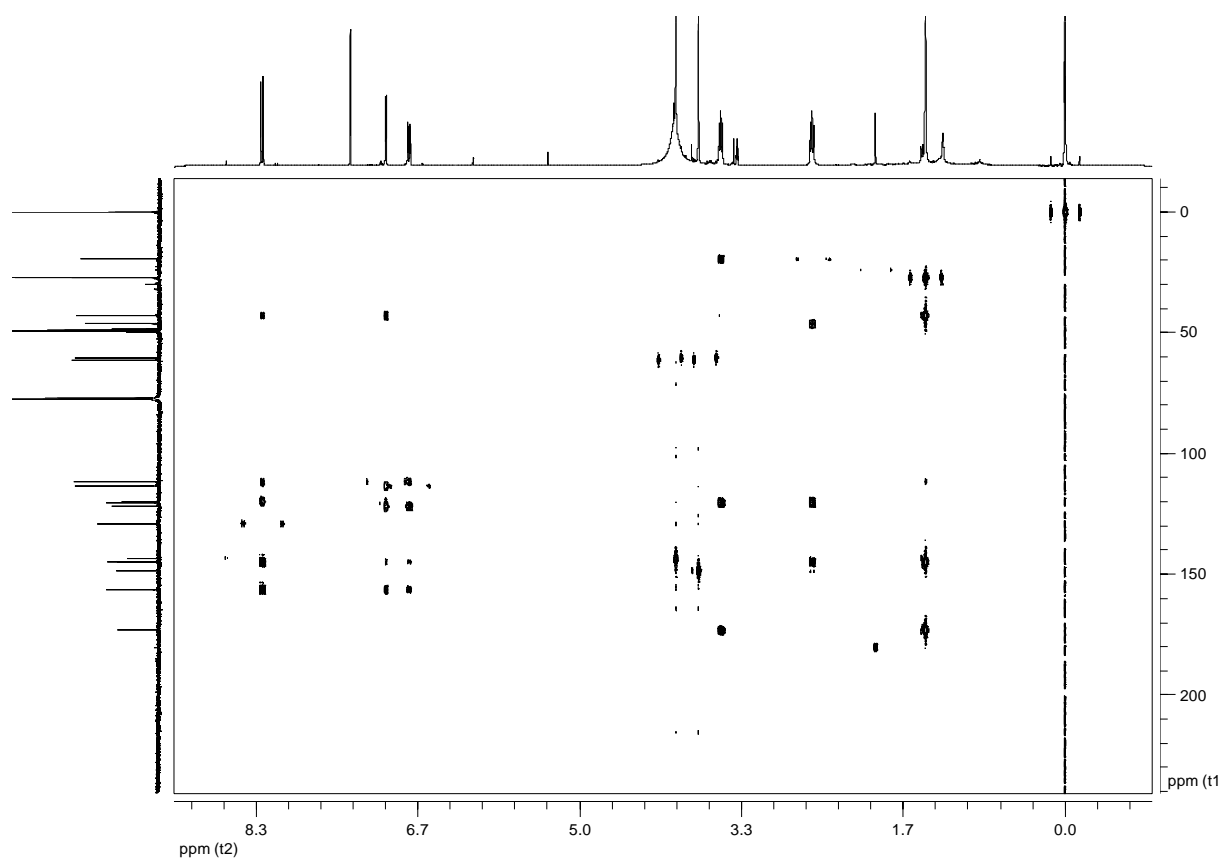
E110. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G33**.



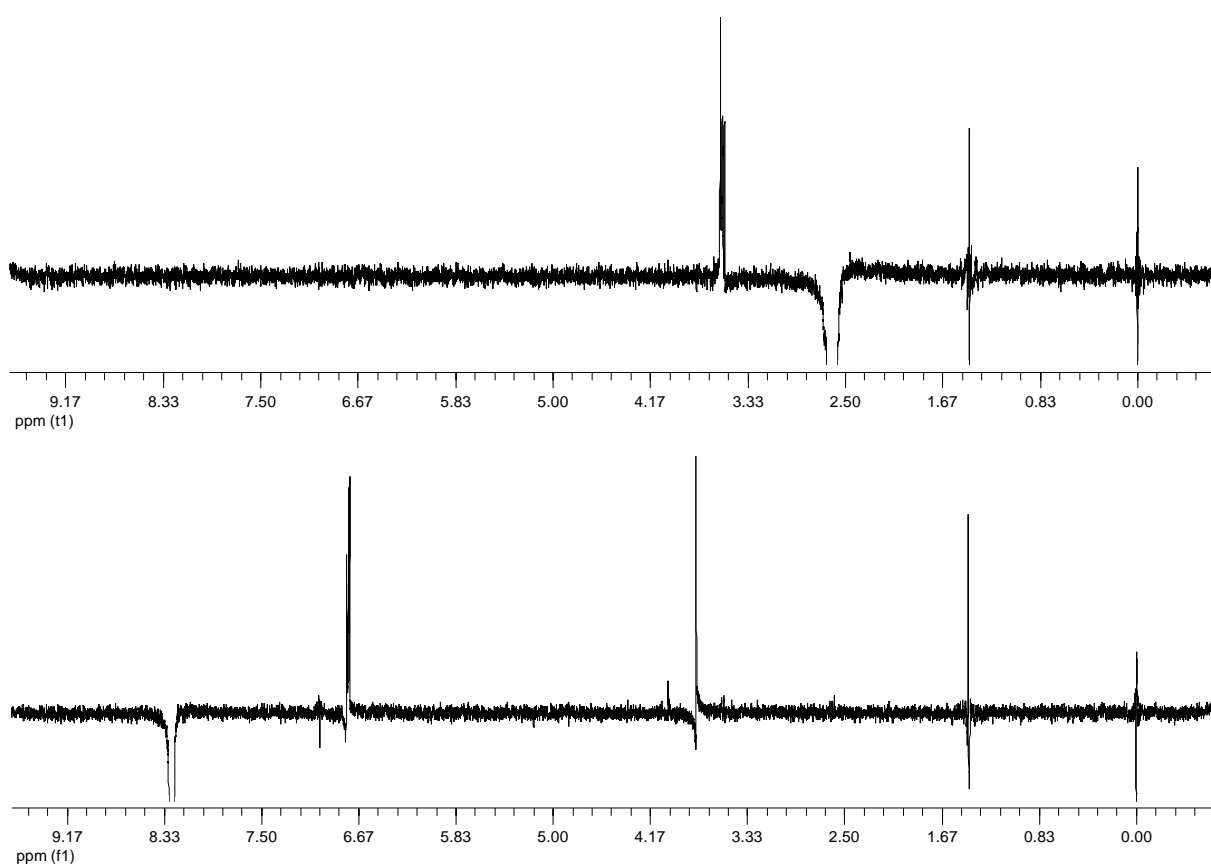
E111. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G33**.



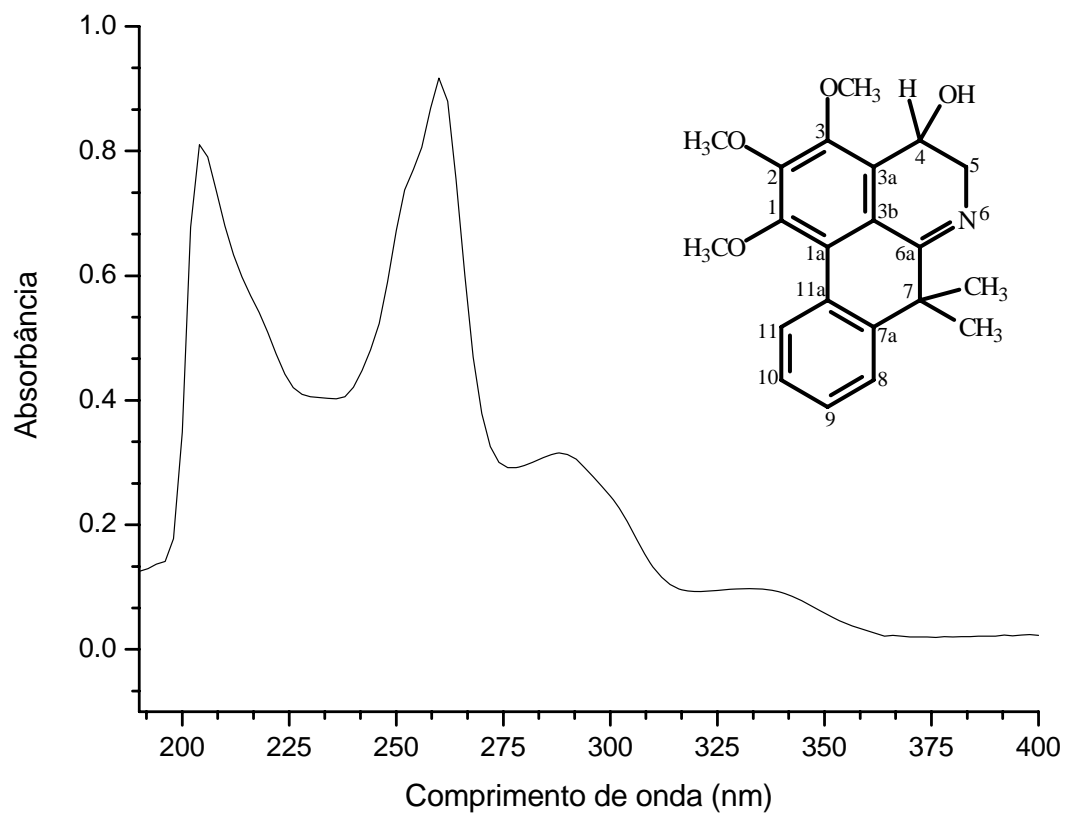
E112. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G33**.



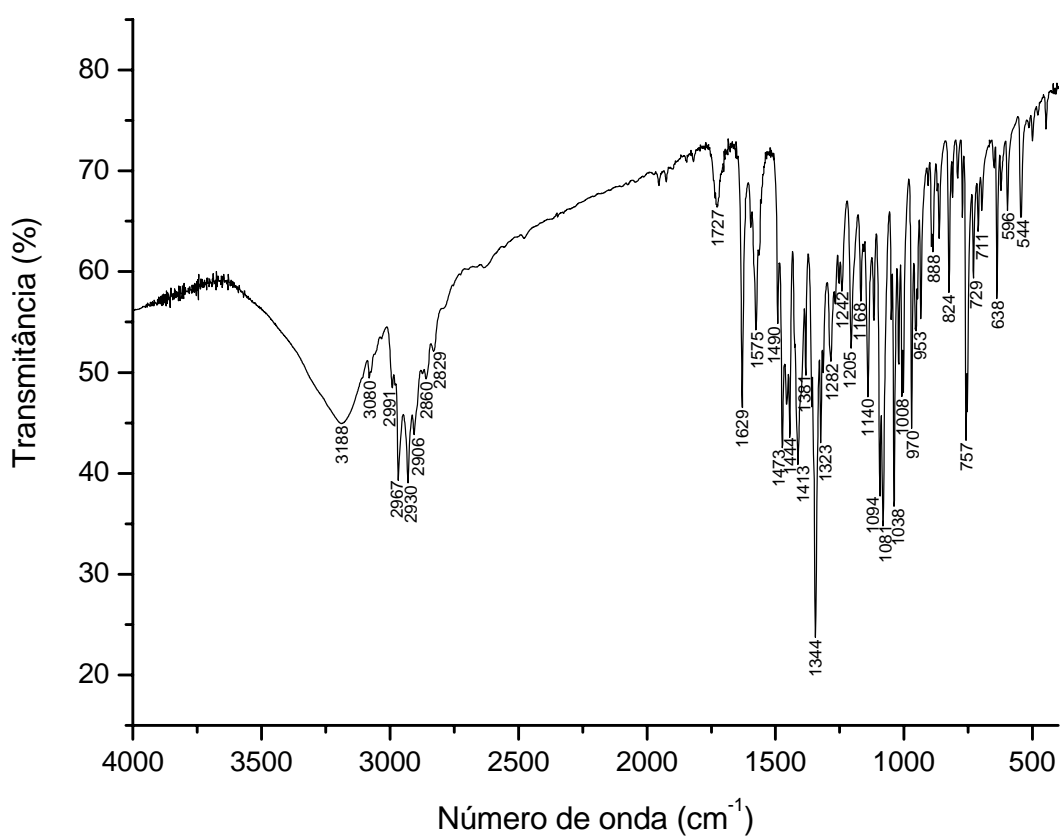
E113. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G33**.



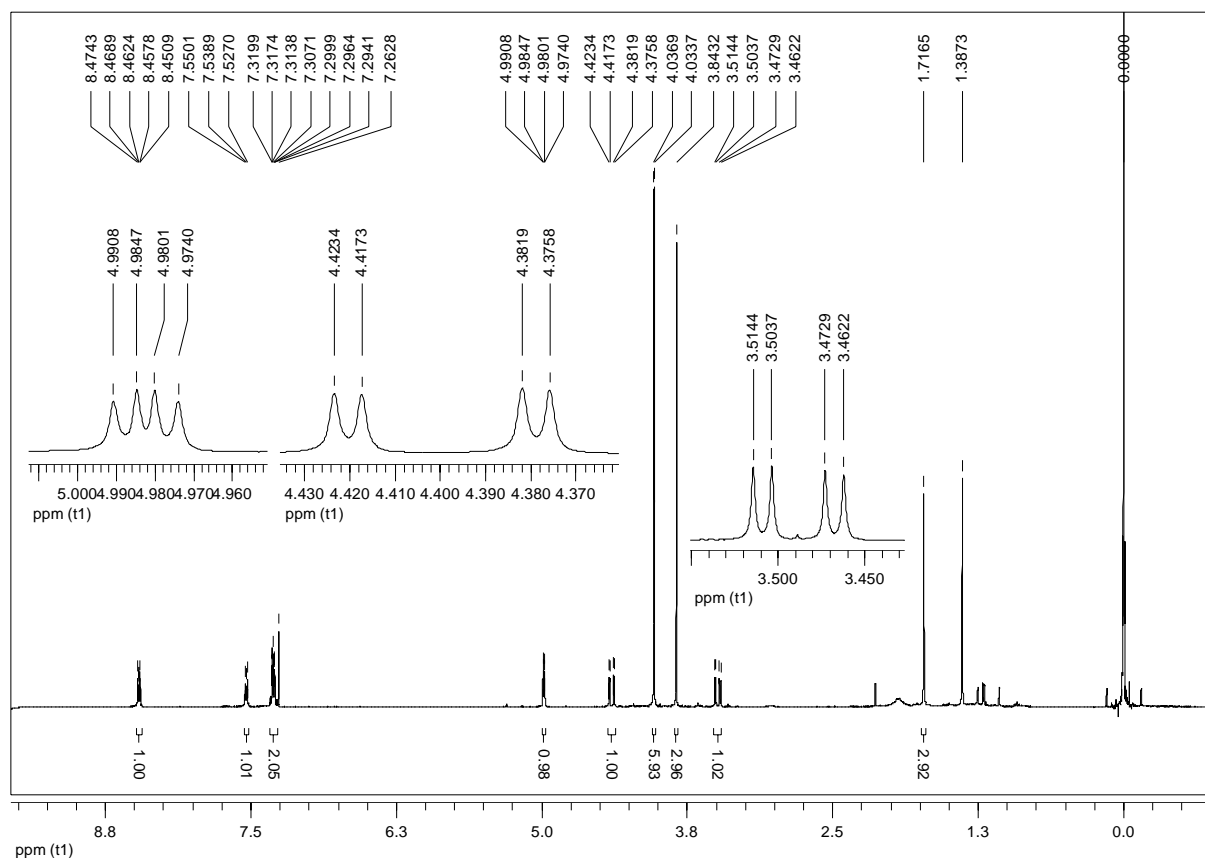
E114. Experimentos de NOE 1D (CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G33**.



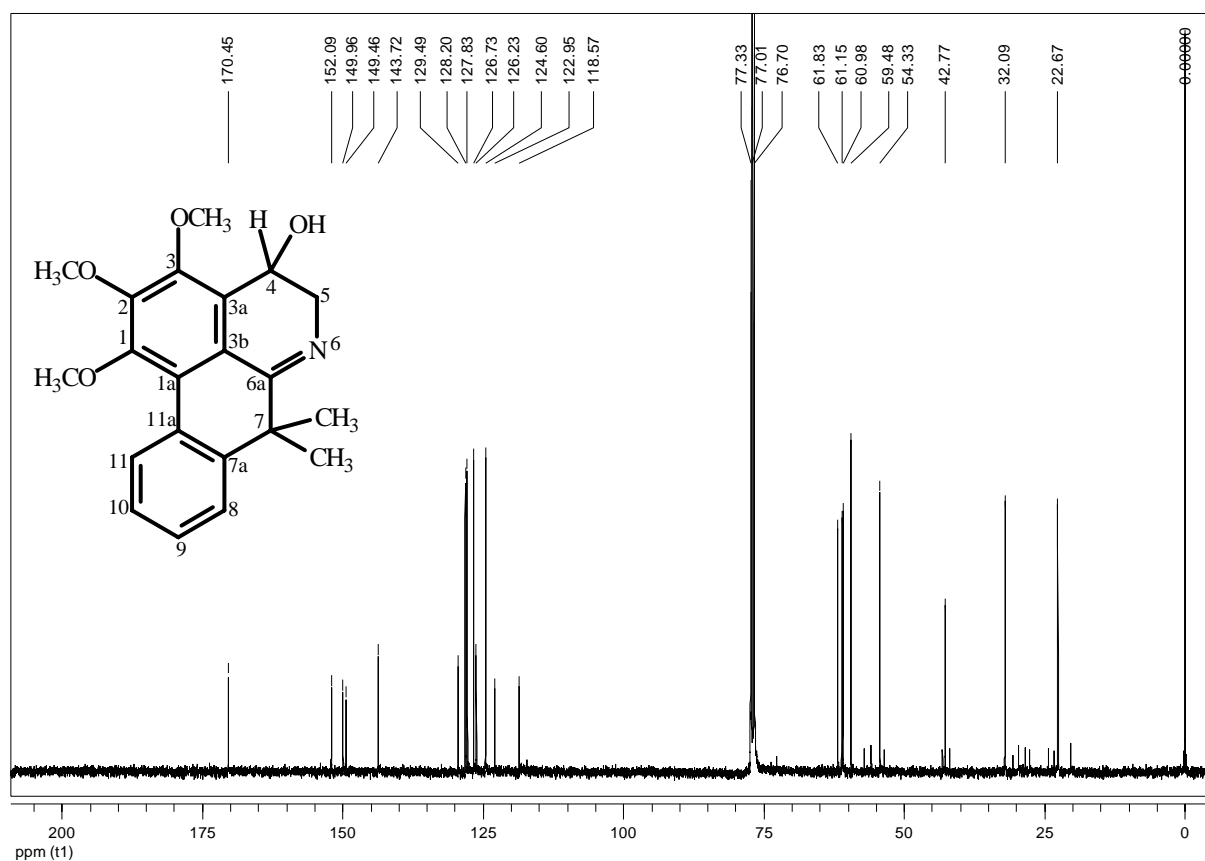
E115. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G38**.



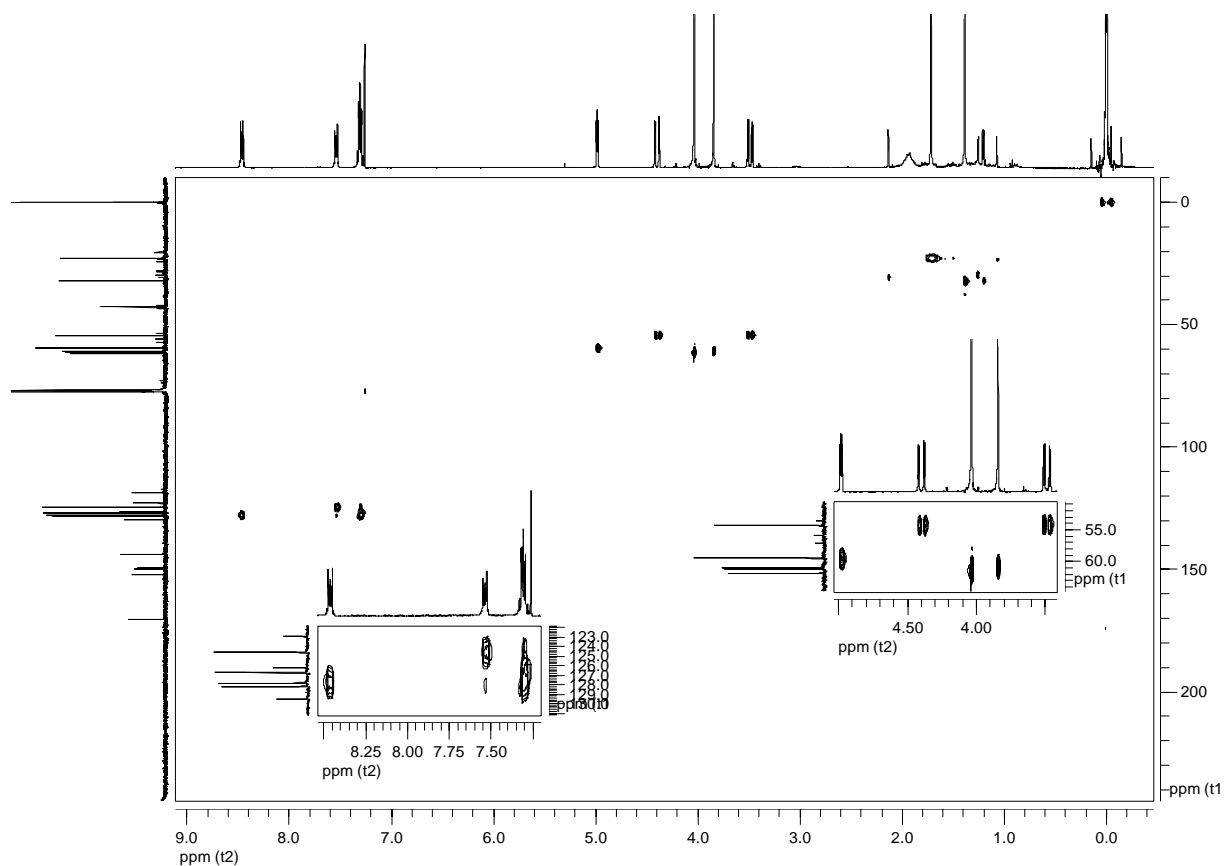
E116. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G38**.



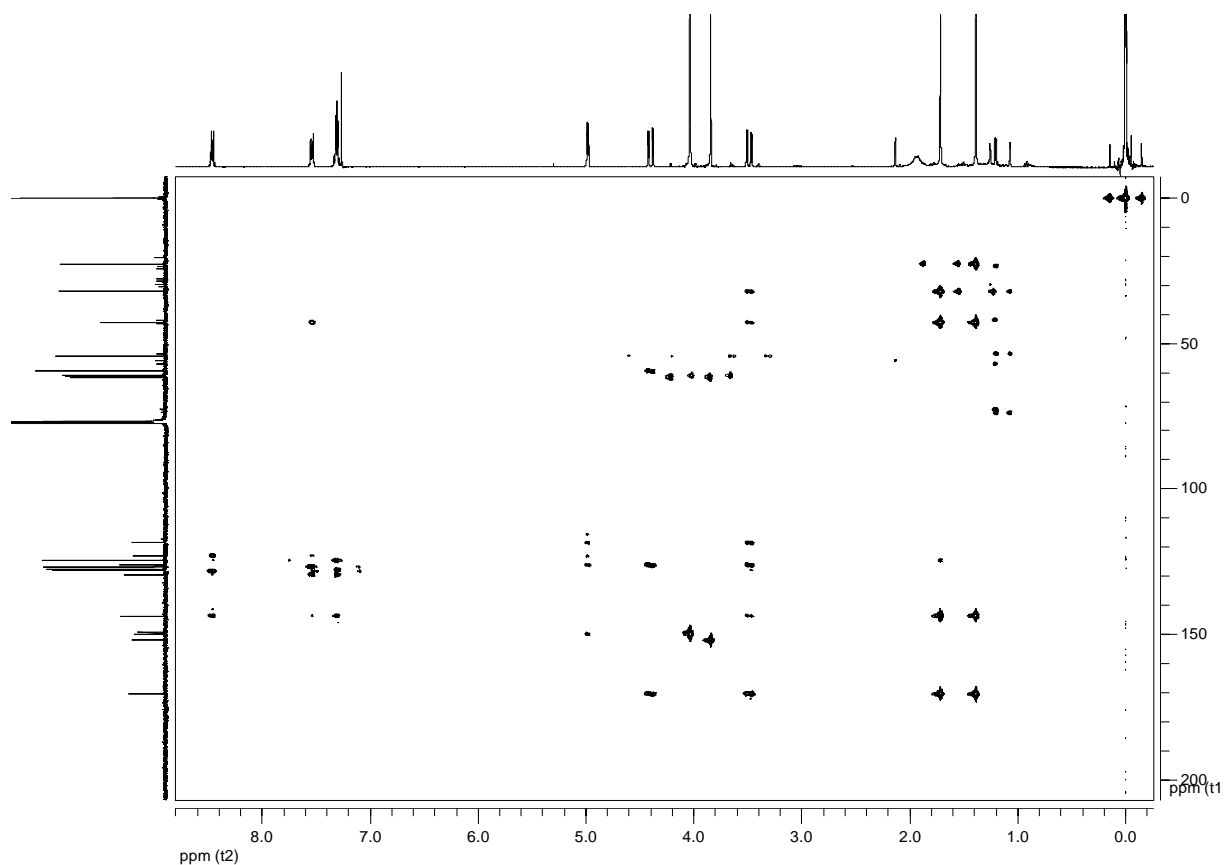
E117. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G38**.



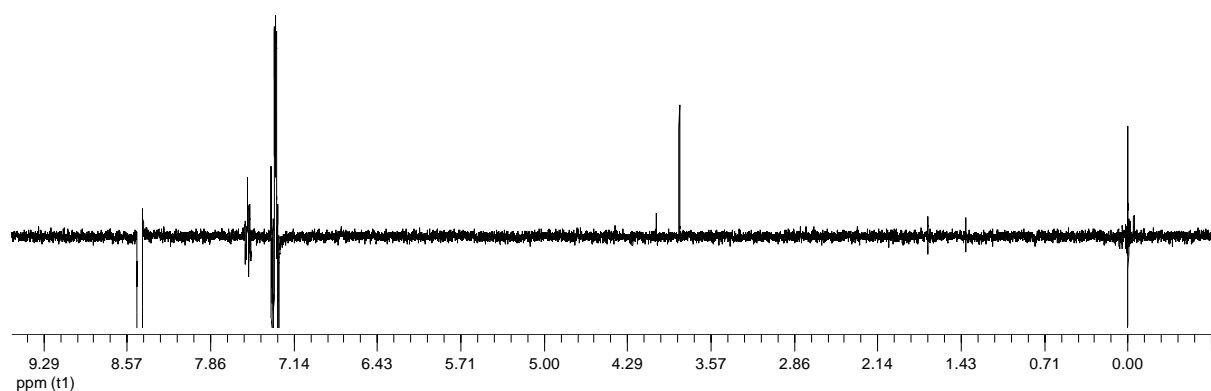
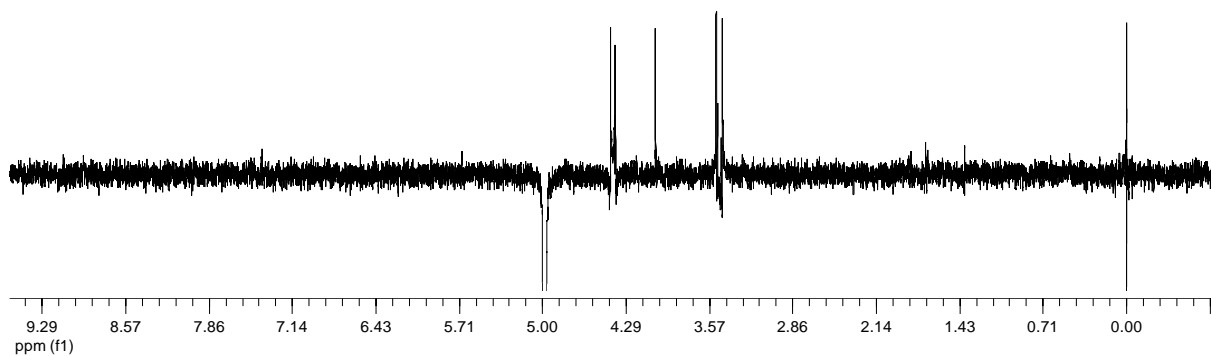
E118. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de **G38**.



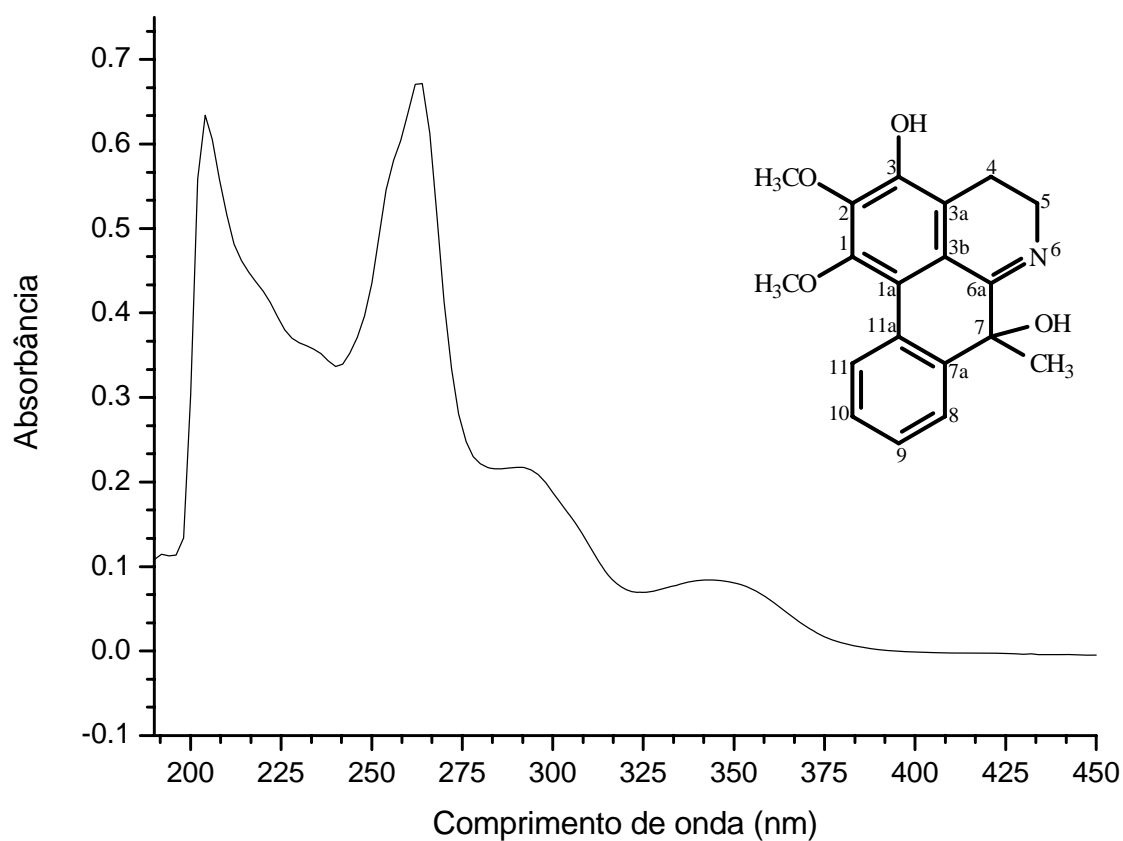
E119. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G38**.



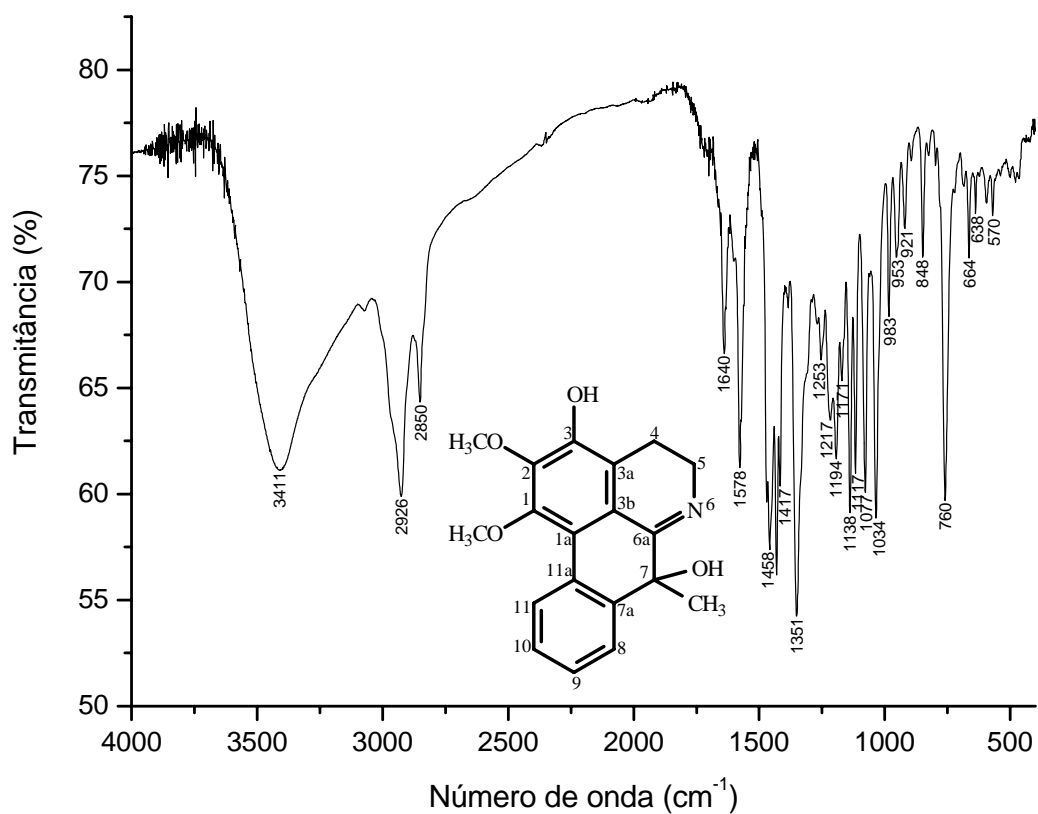
E120. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G38**.



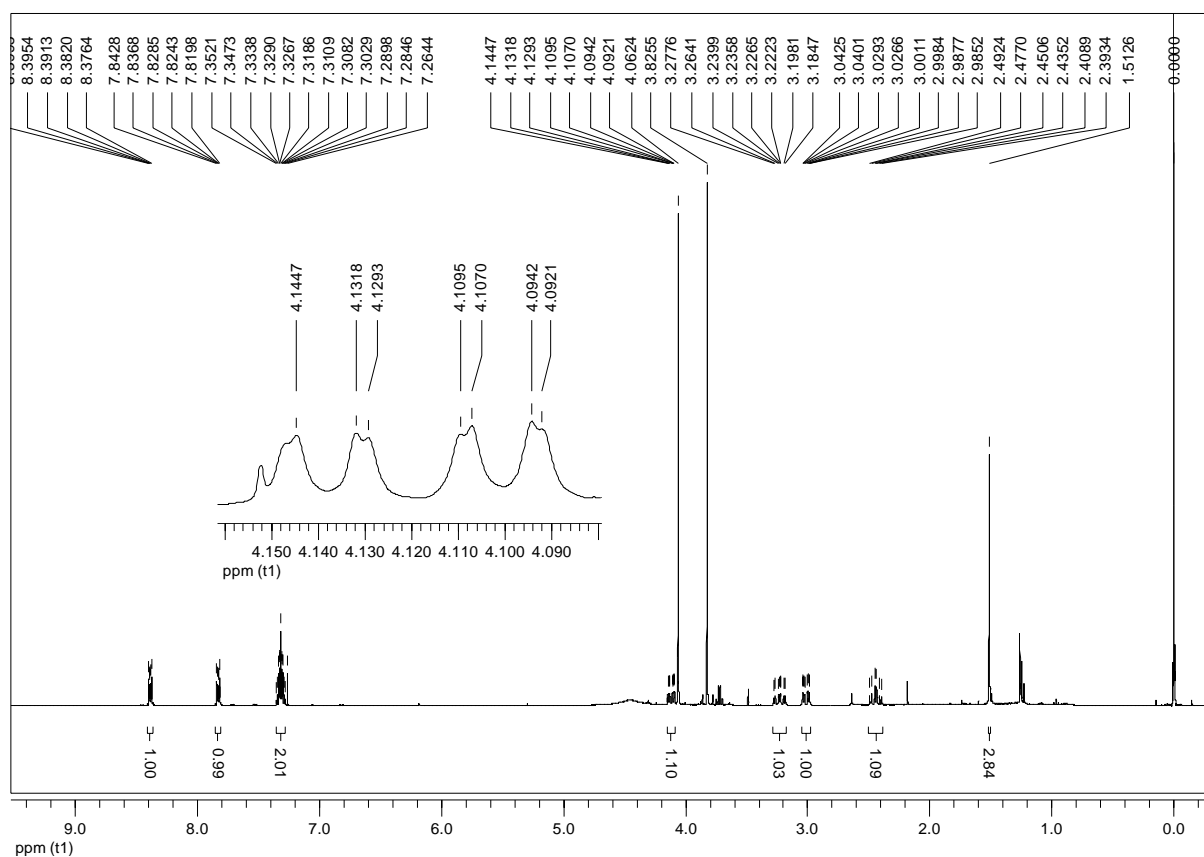
E121. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl_3) de **G38**.



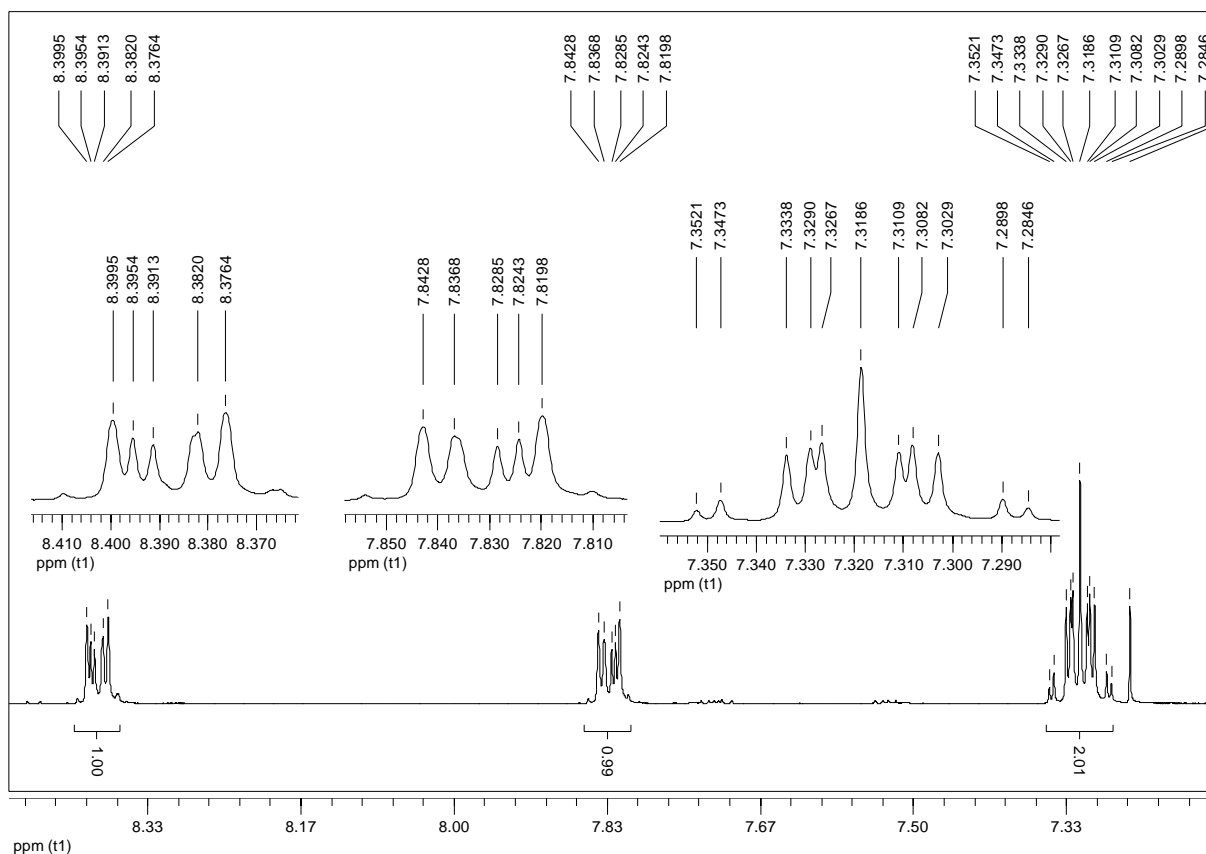
E122. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G25**.



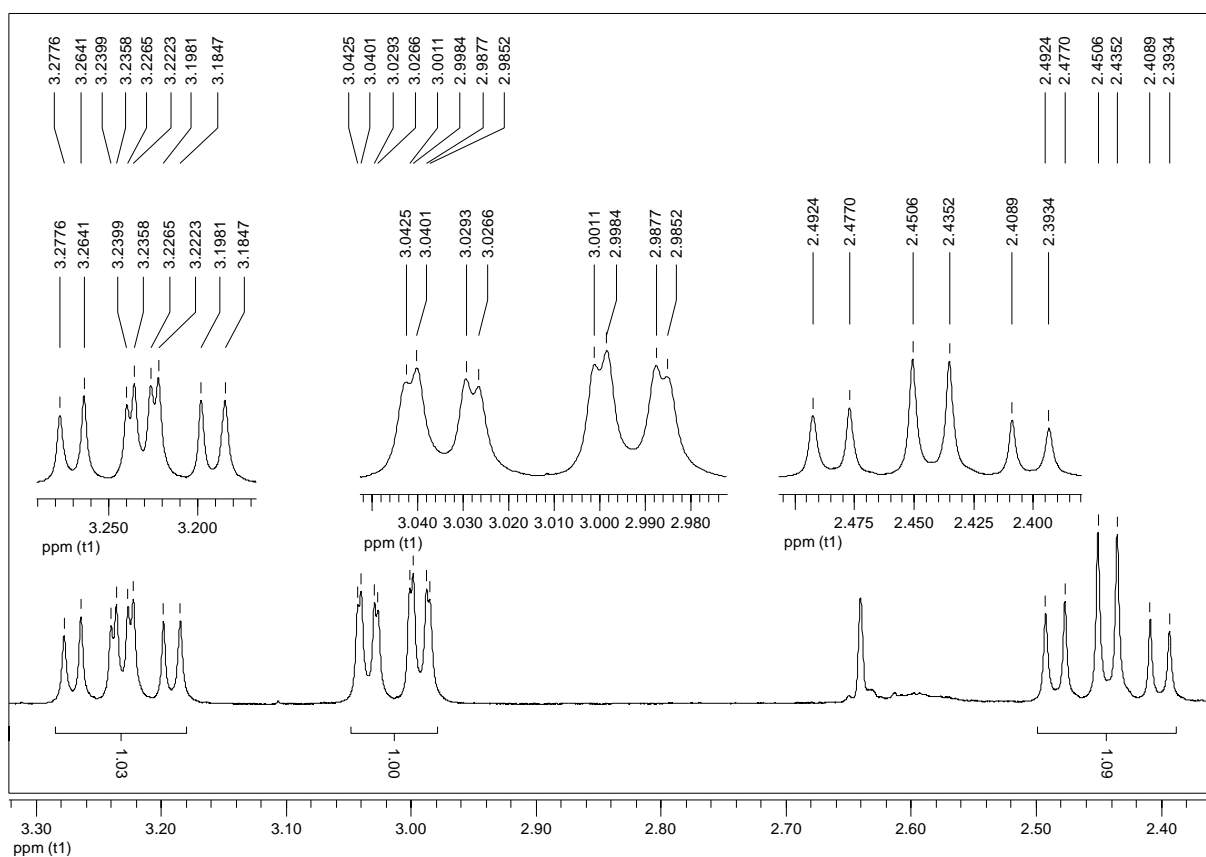
E123. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G25**.



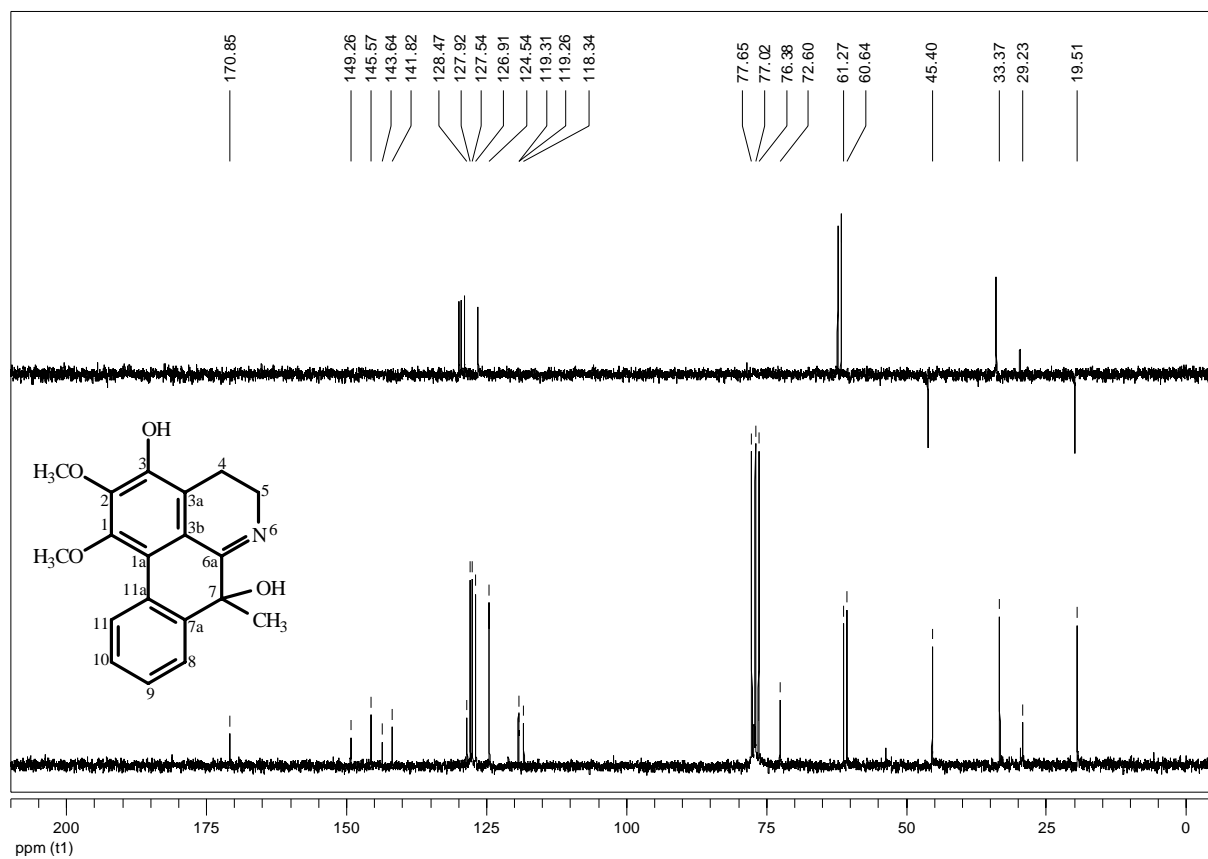
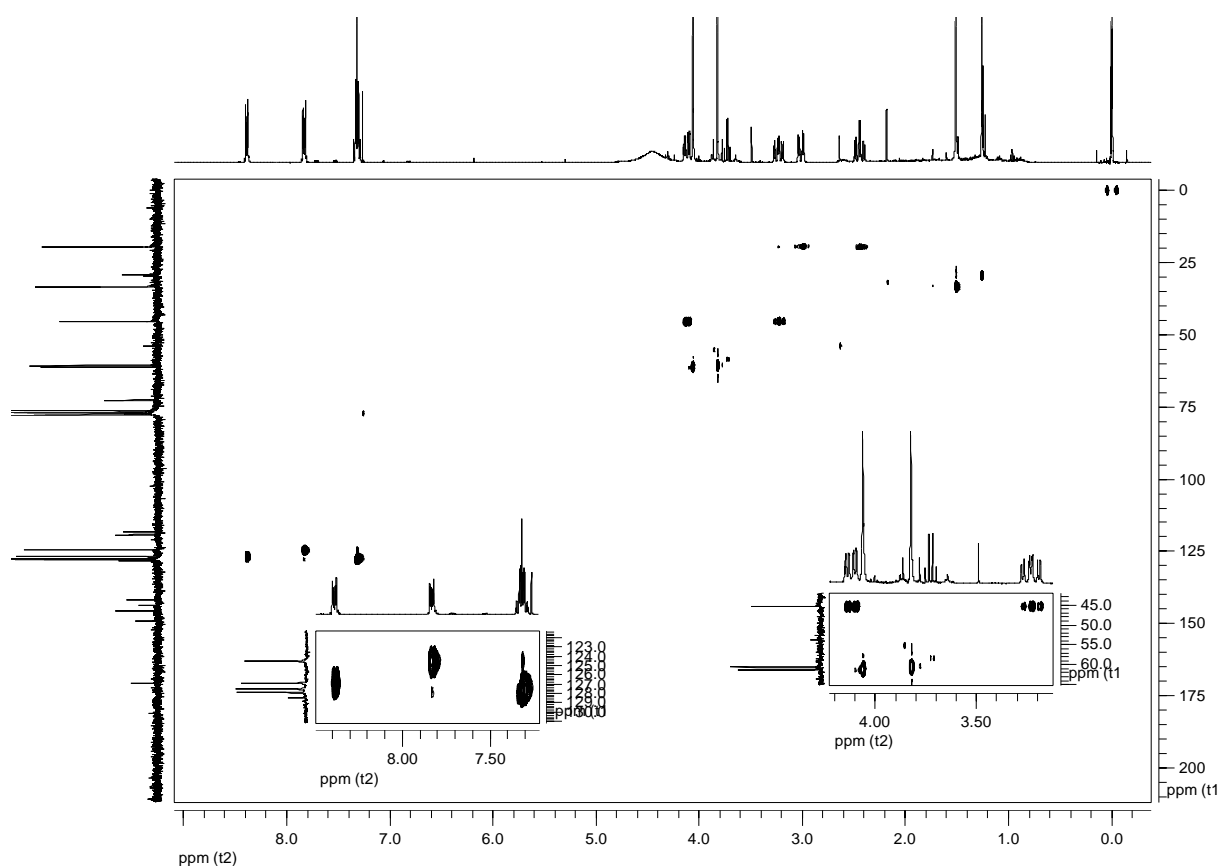
E124. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G25**.

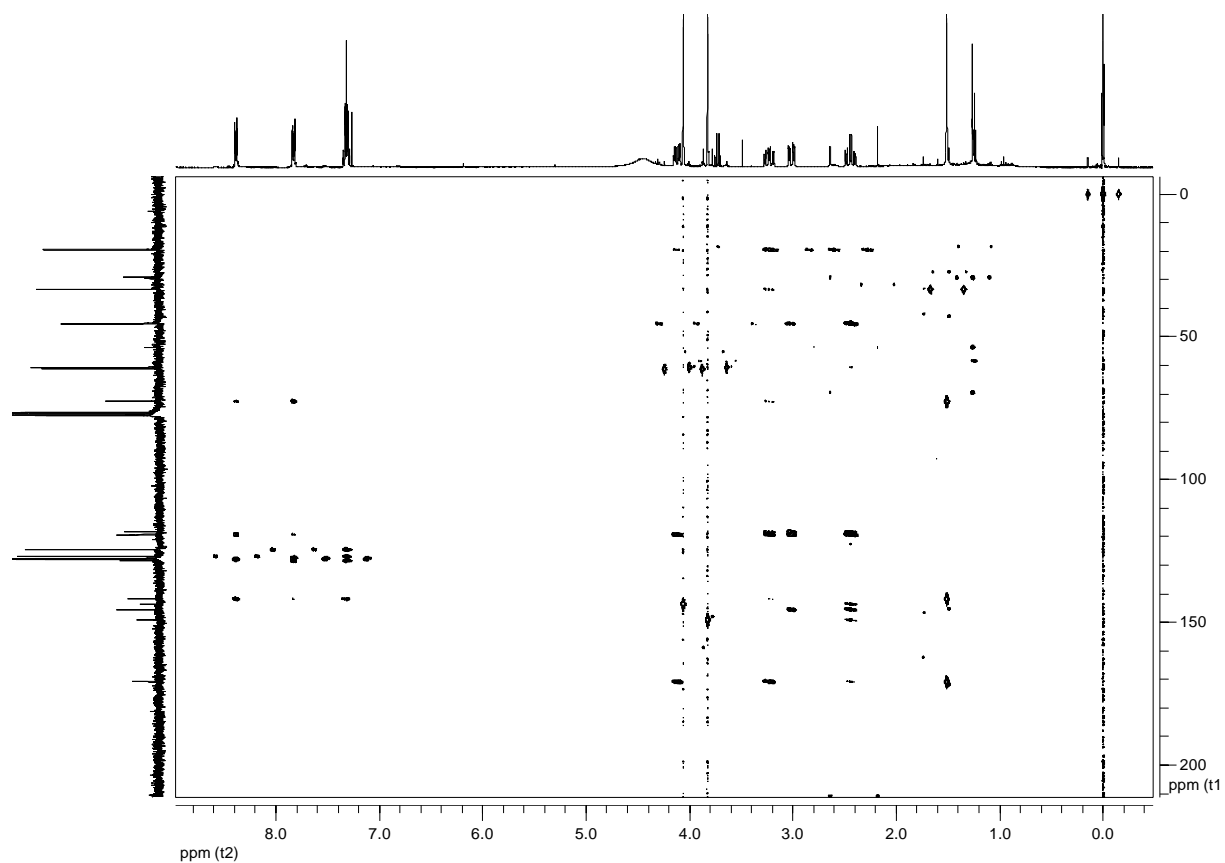


E125. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G25**.

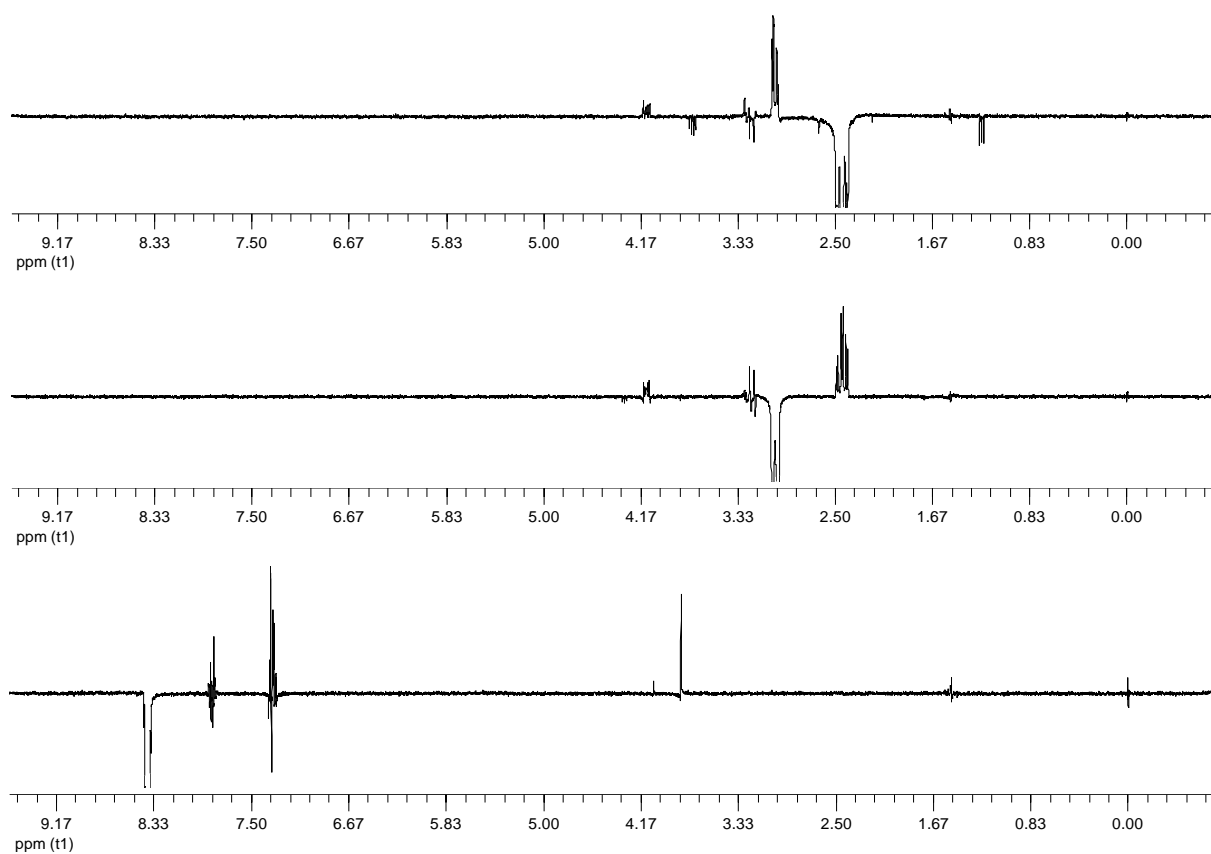


E126. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G25**.

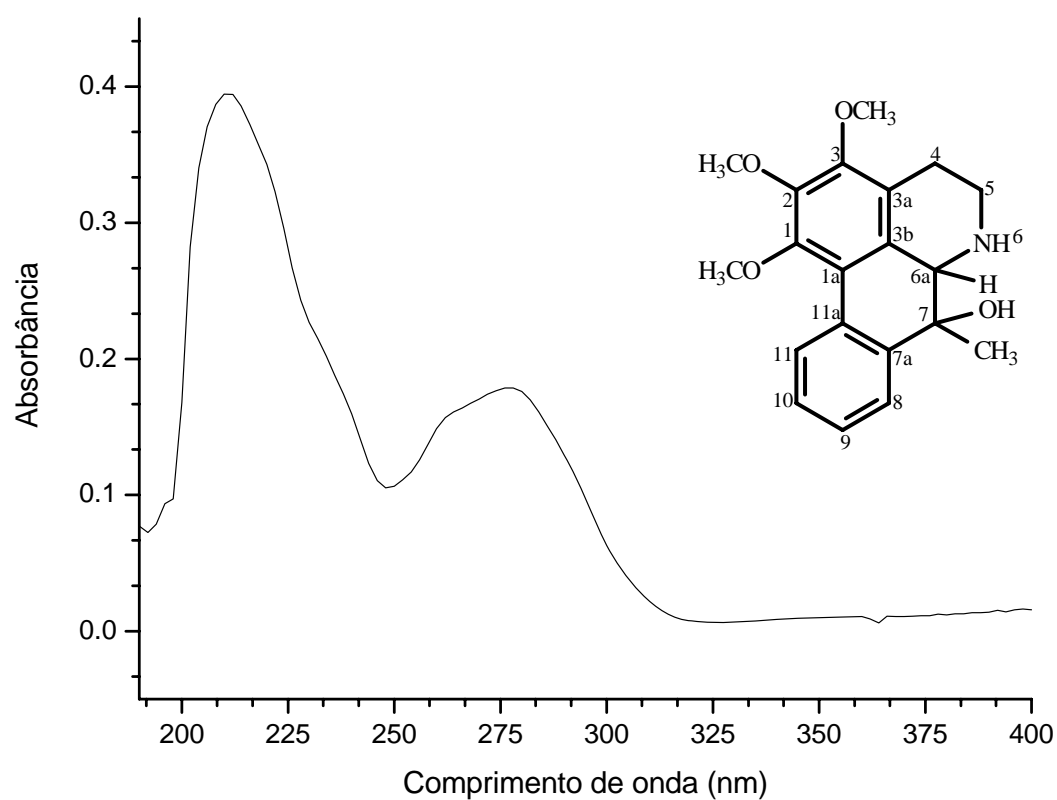
E127. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) de G25.E128. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de G25.



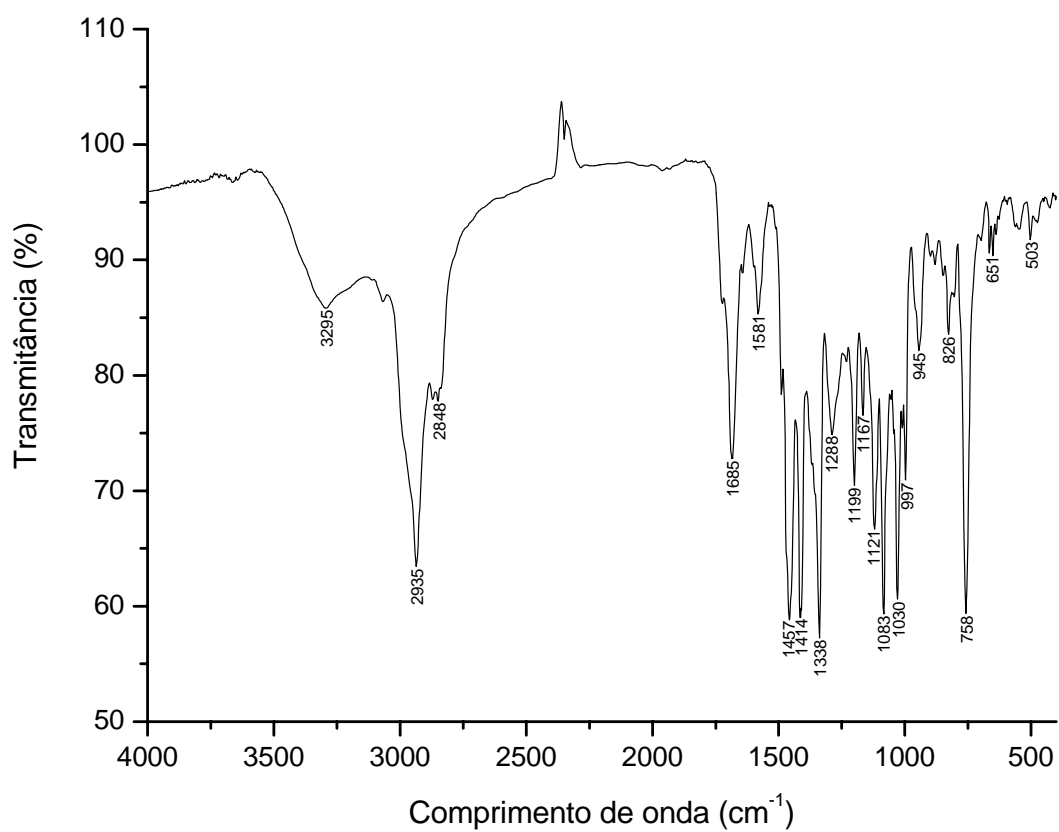
E129. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G25**.



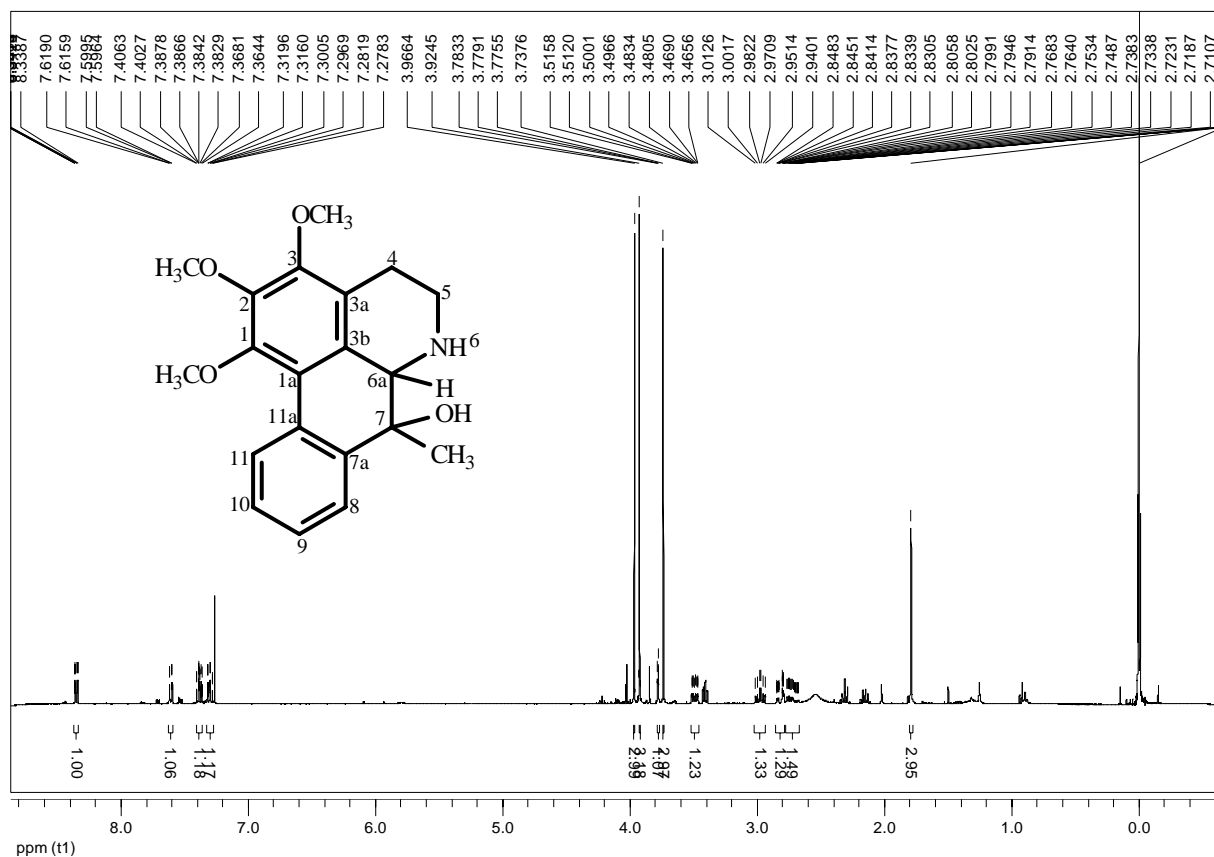
E130. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CDCl₃) de **G25**.



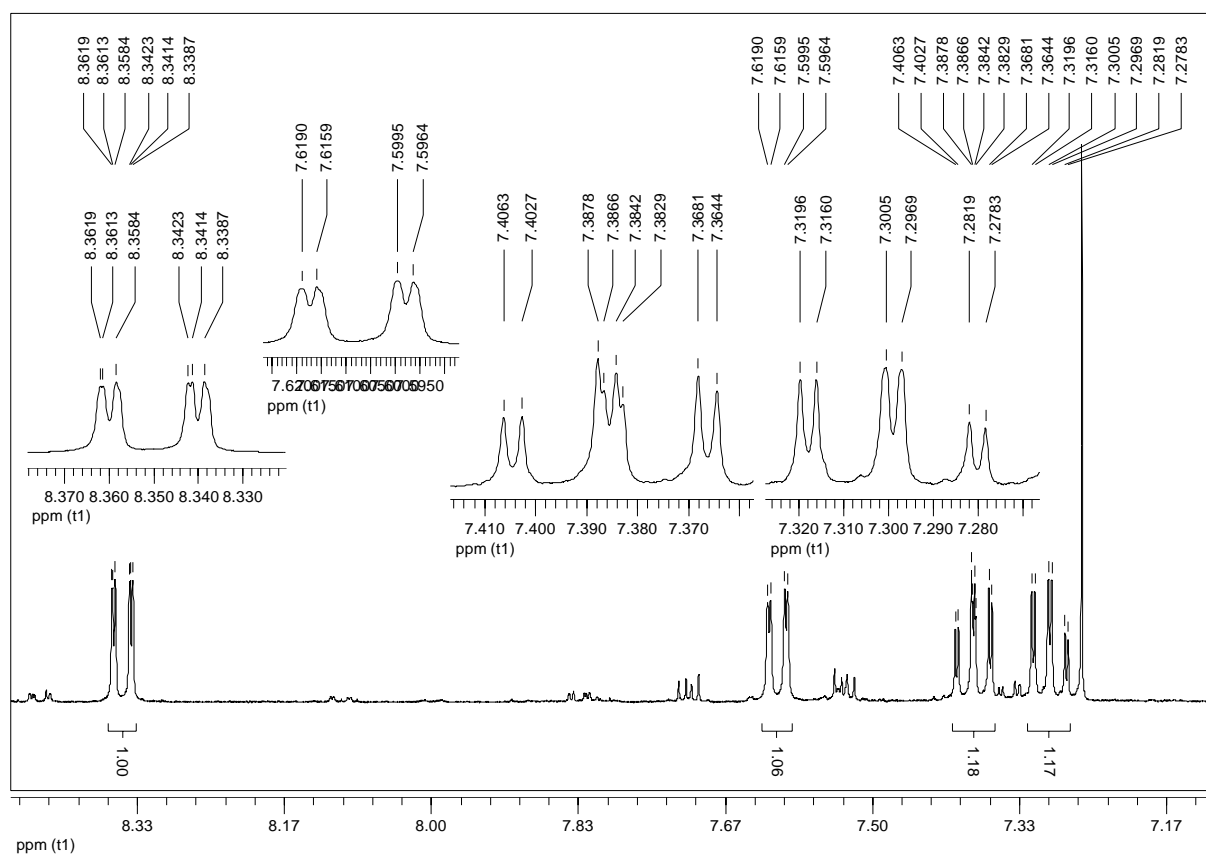
E131. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G39**.



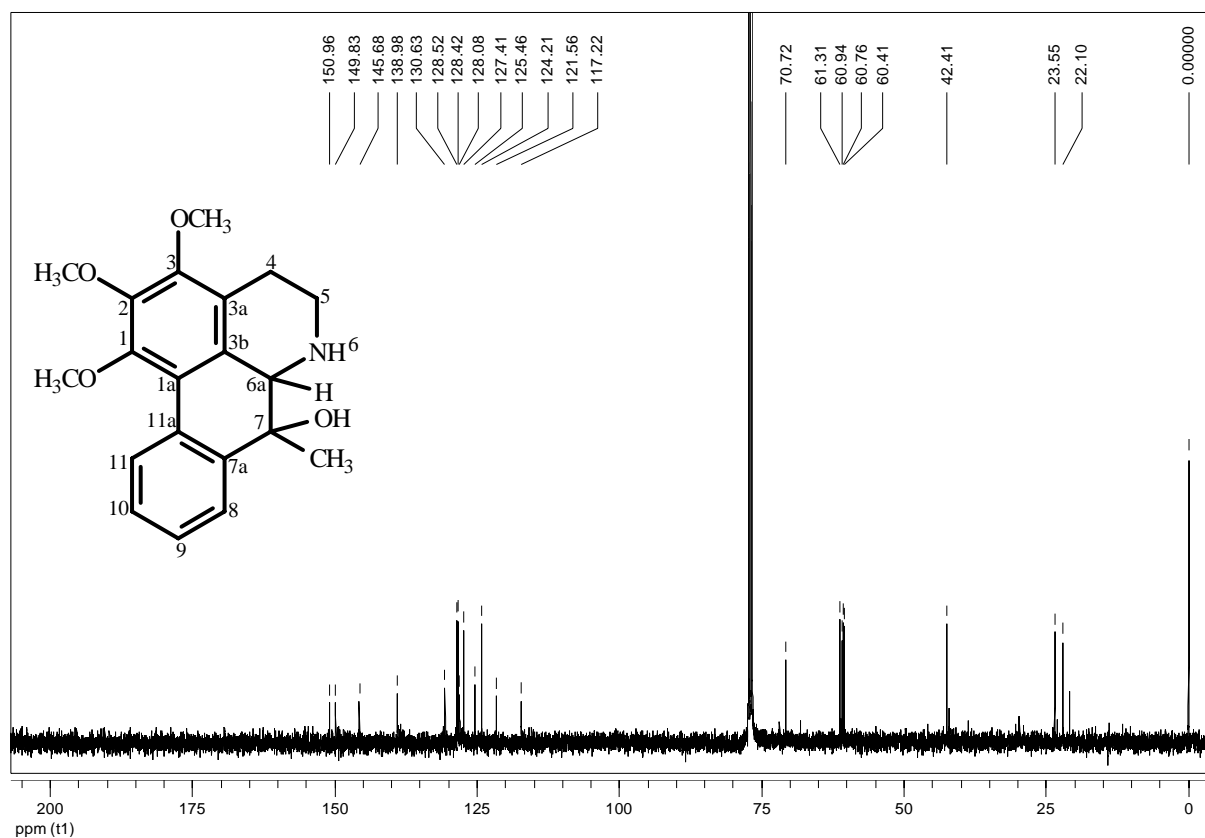
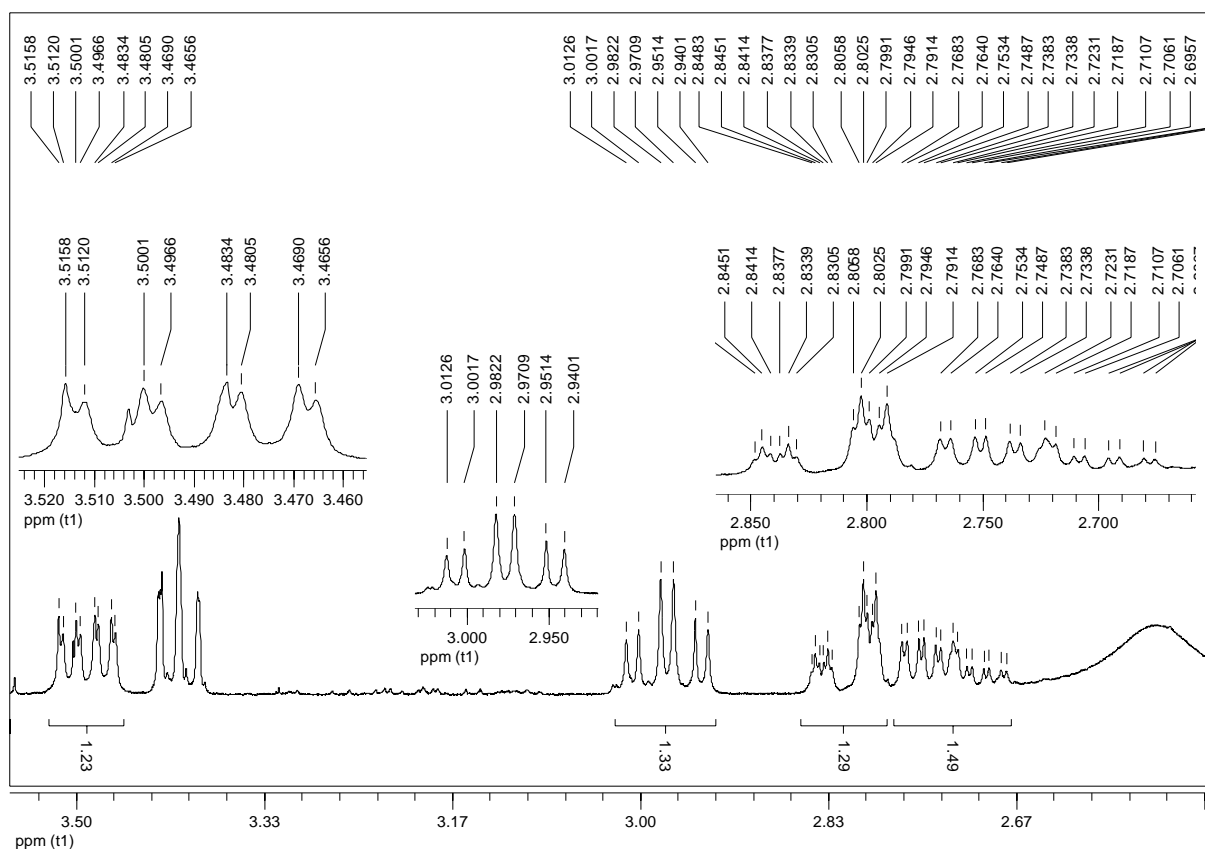
E132. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl₃) de **G39**.

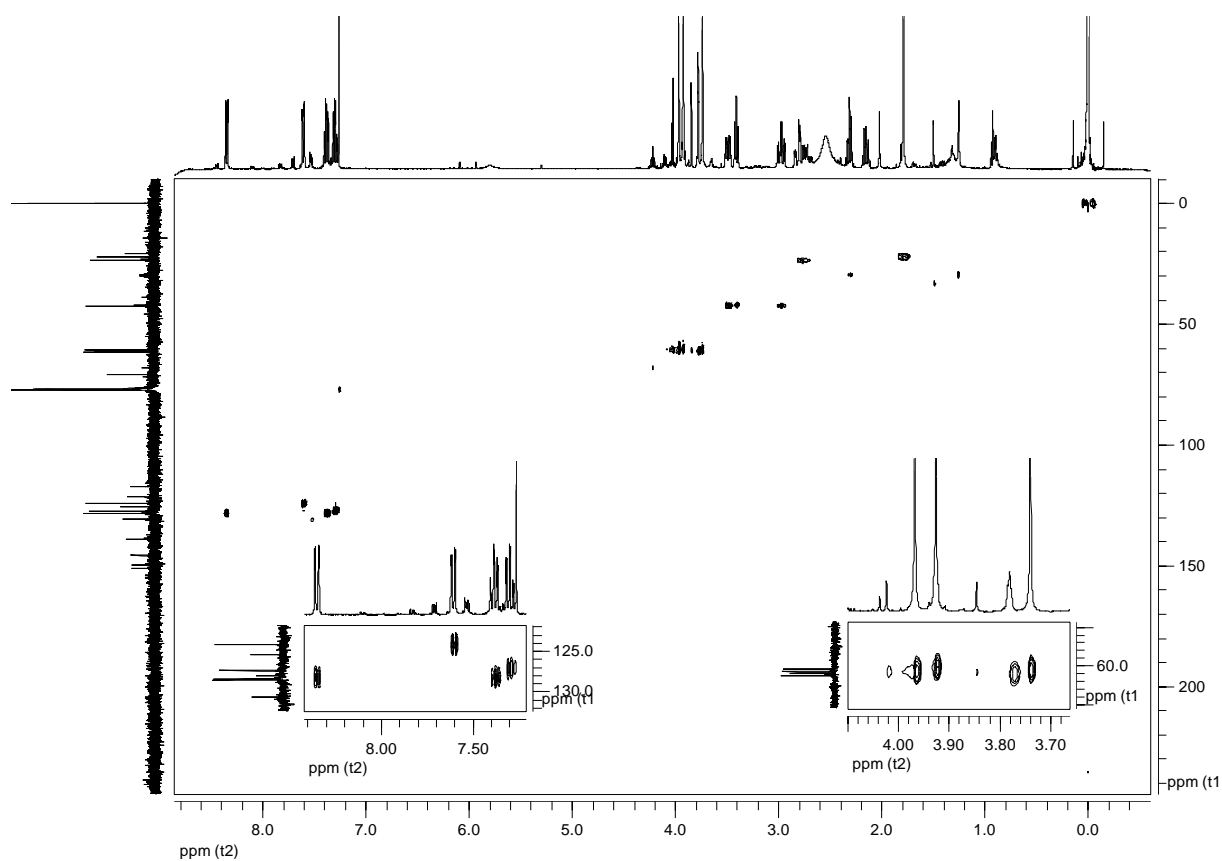


E133. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G39**.

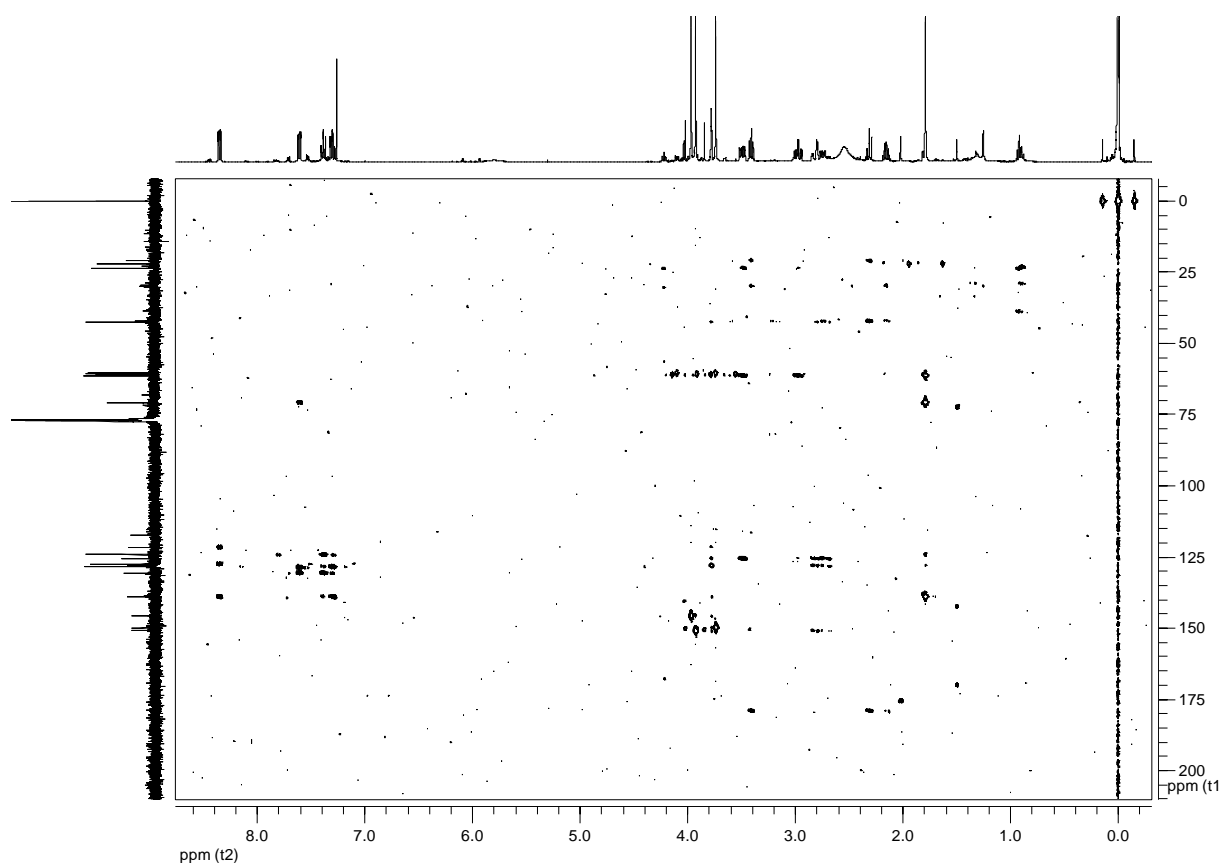


E134. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G39**.

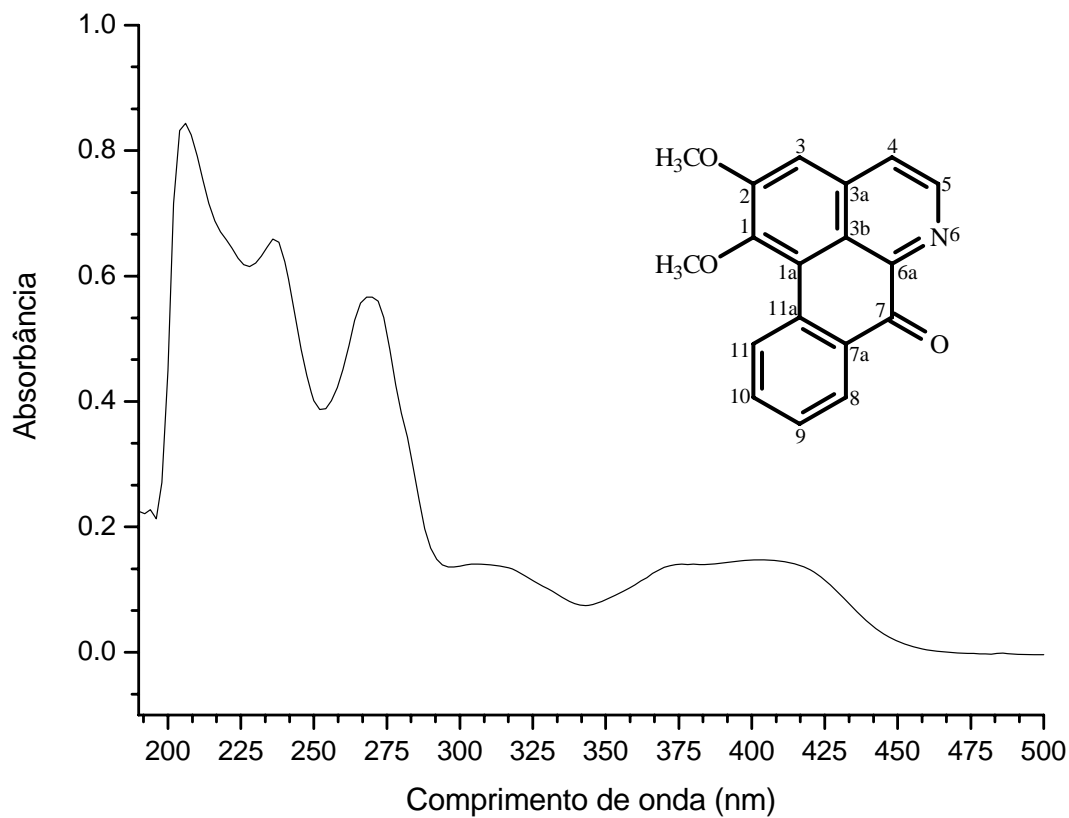




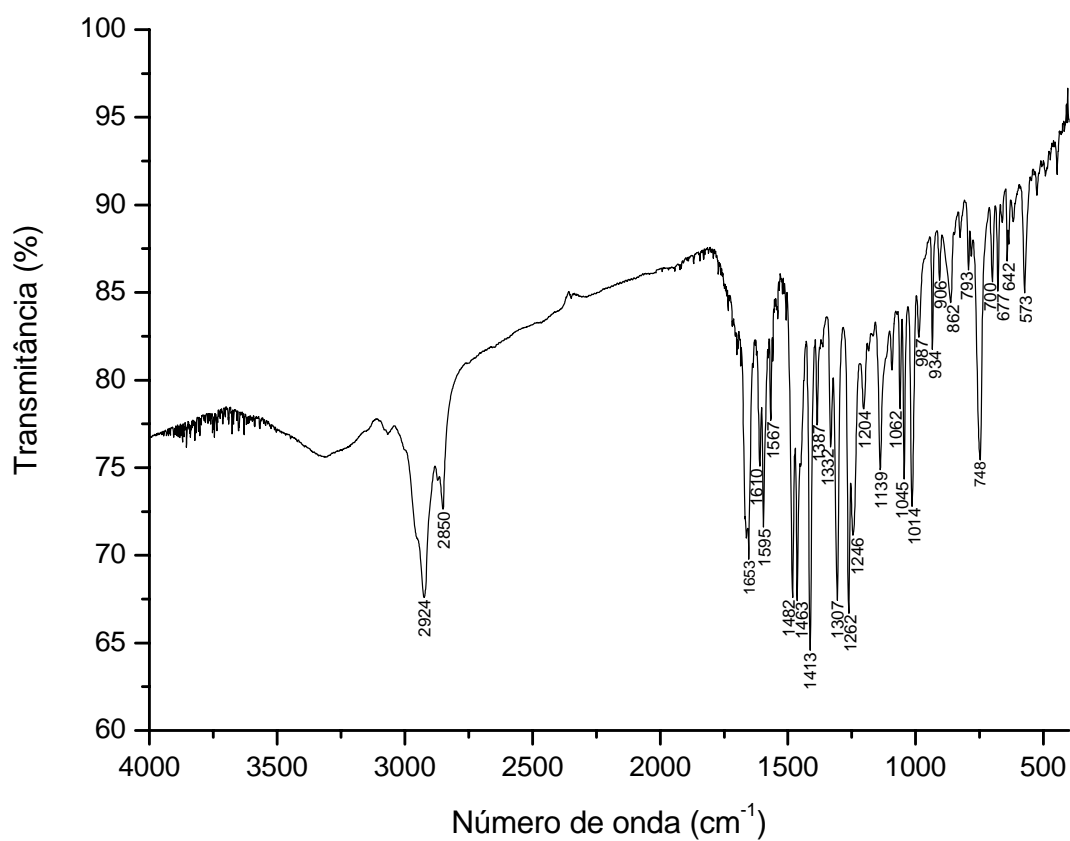
E137. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G39**.



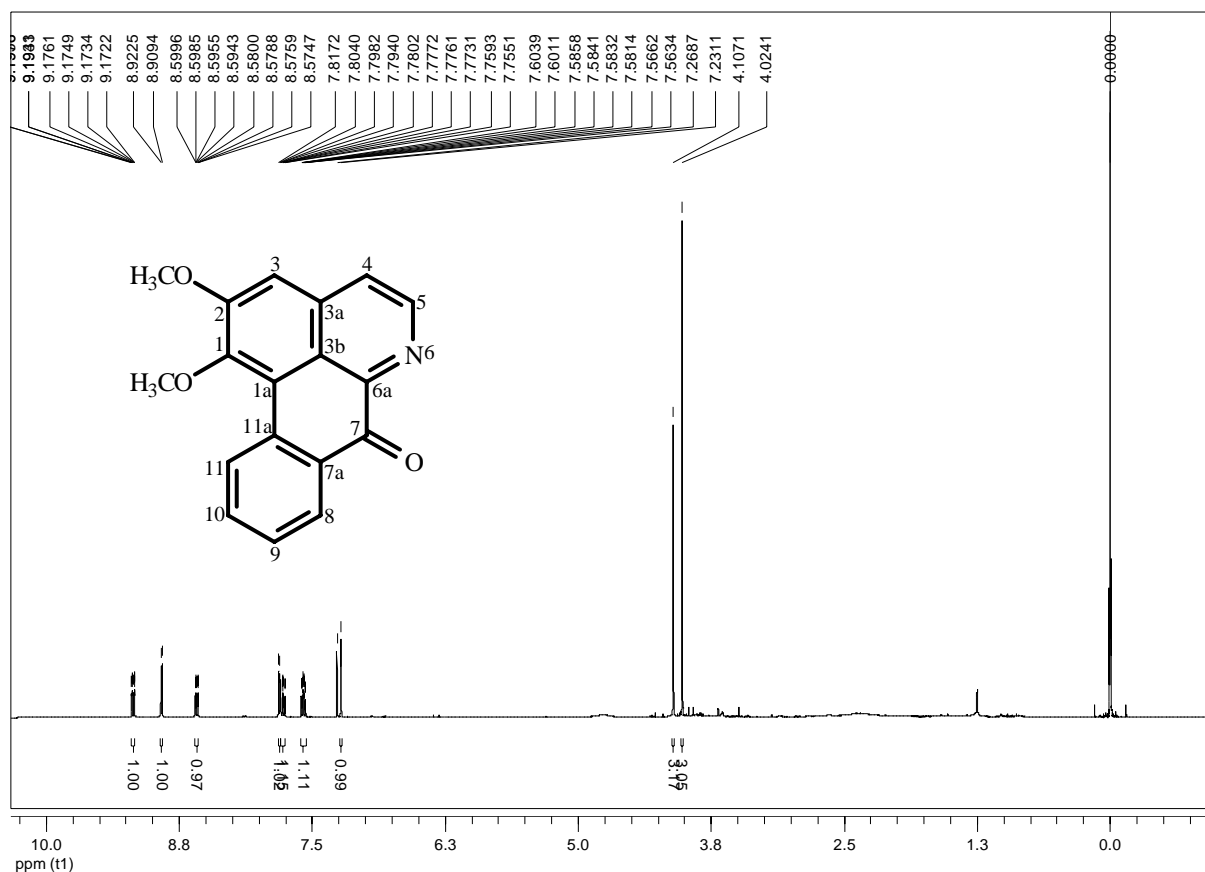
E138. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G39**.



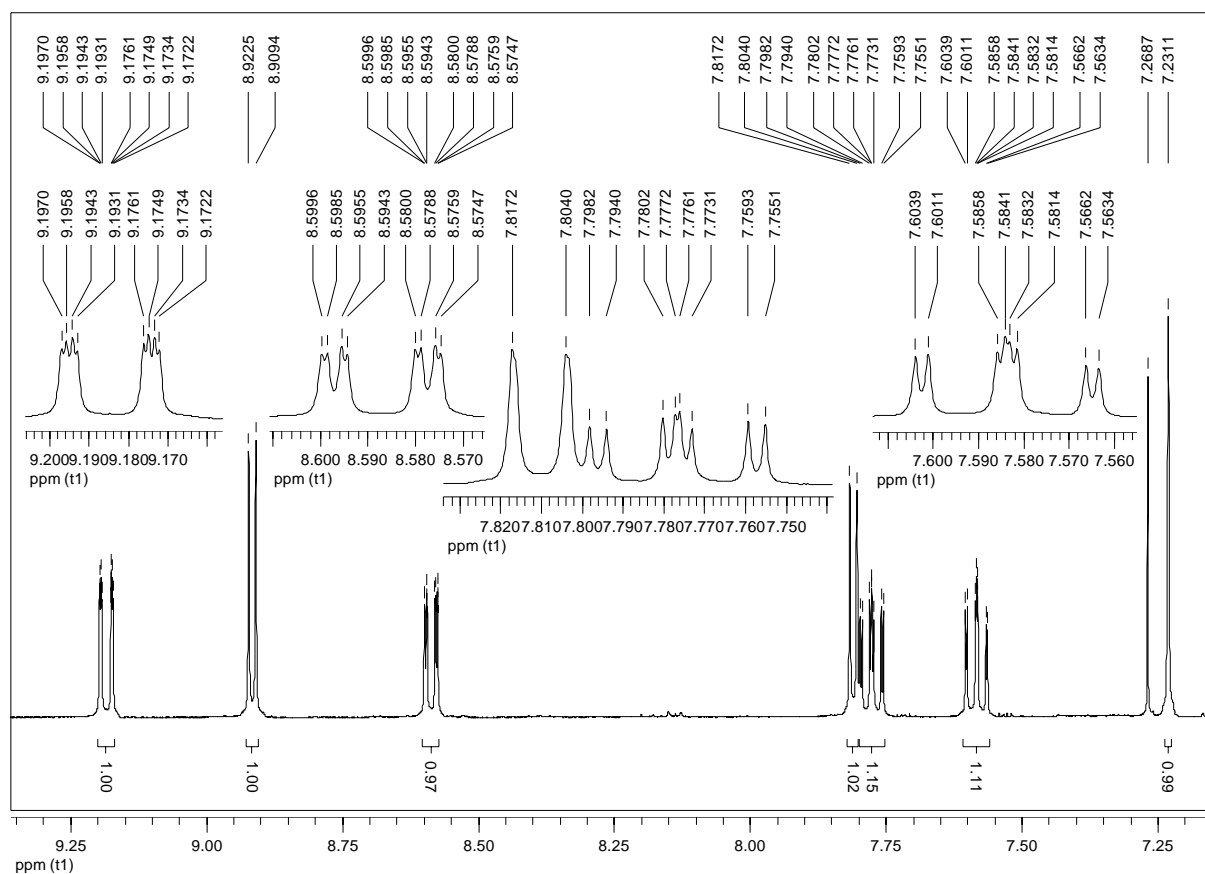
E139. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G26**.



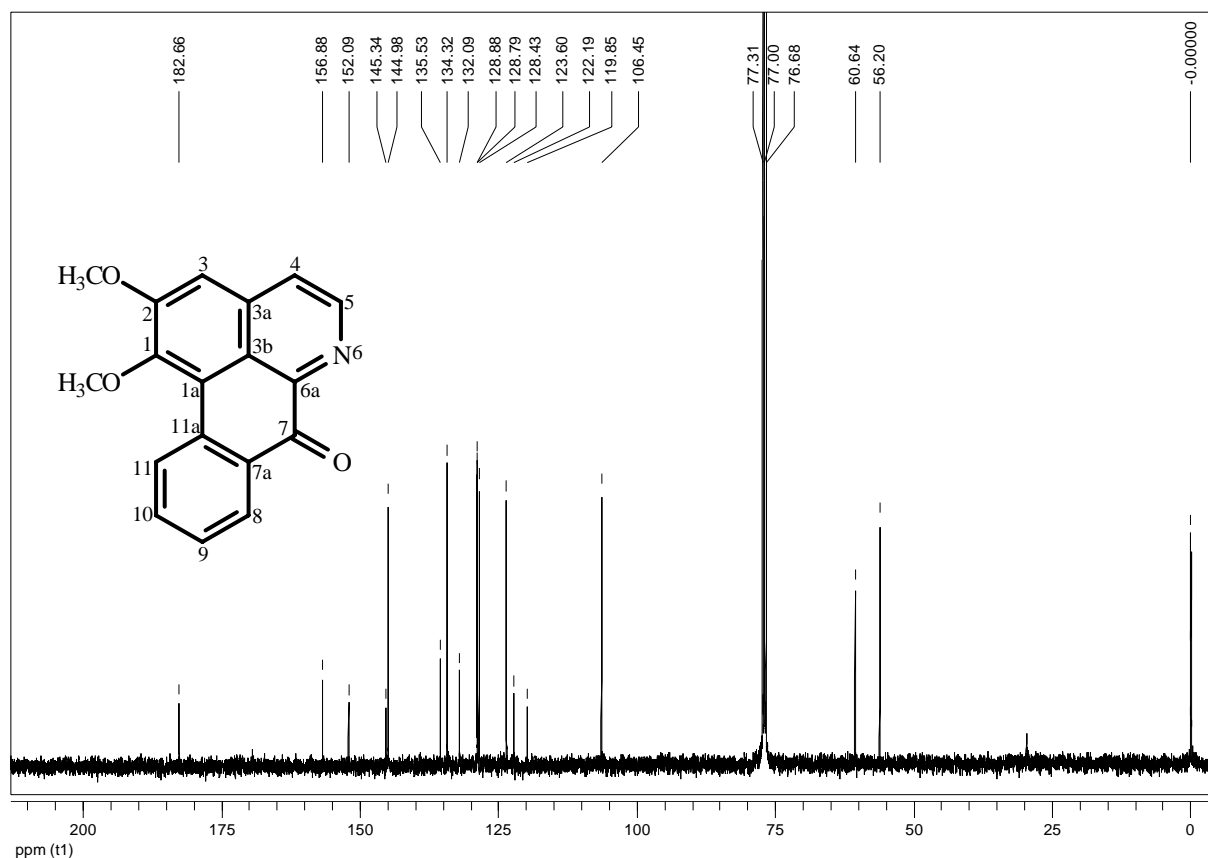
E140. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl₃) de **G26**.



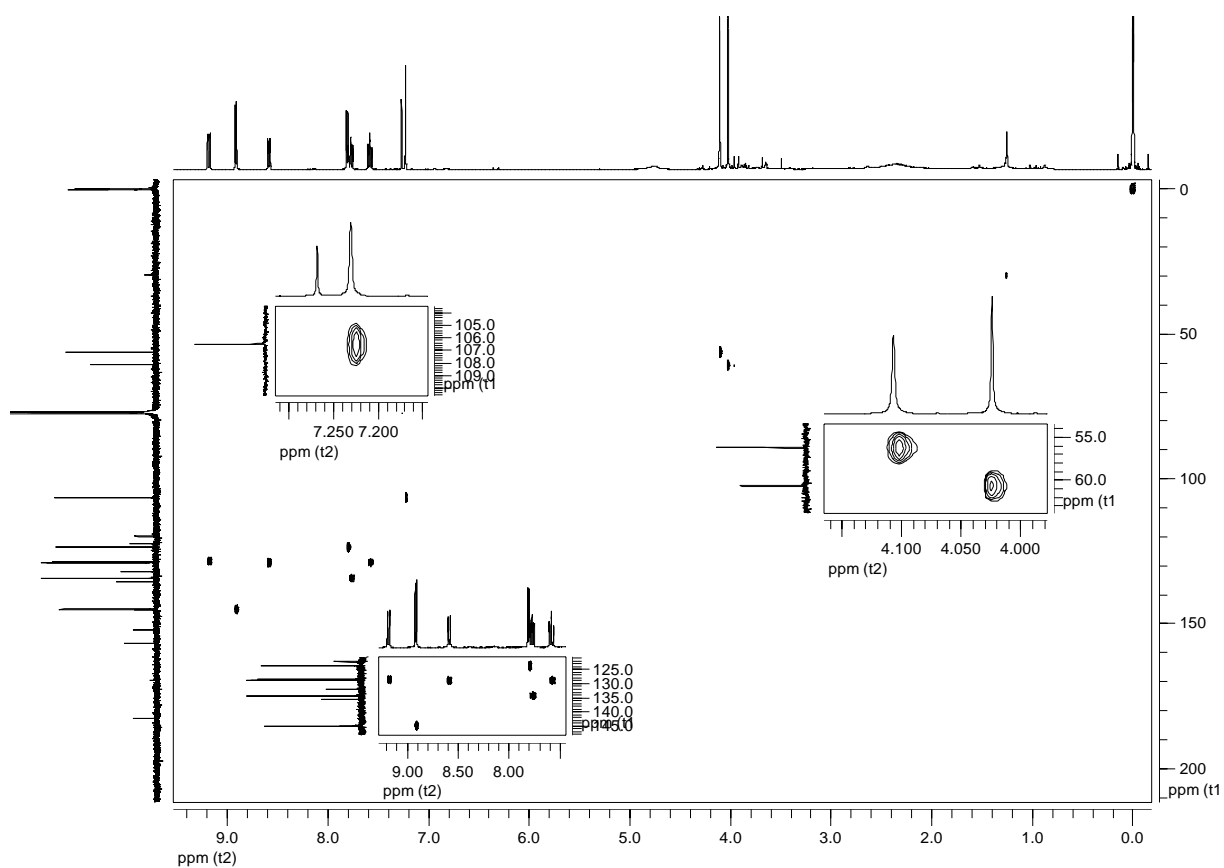
E141. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G26**.



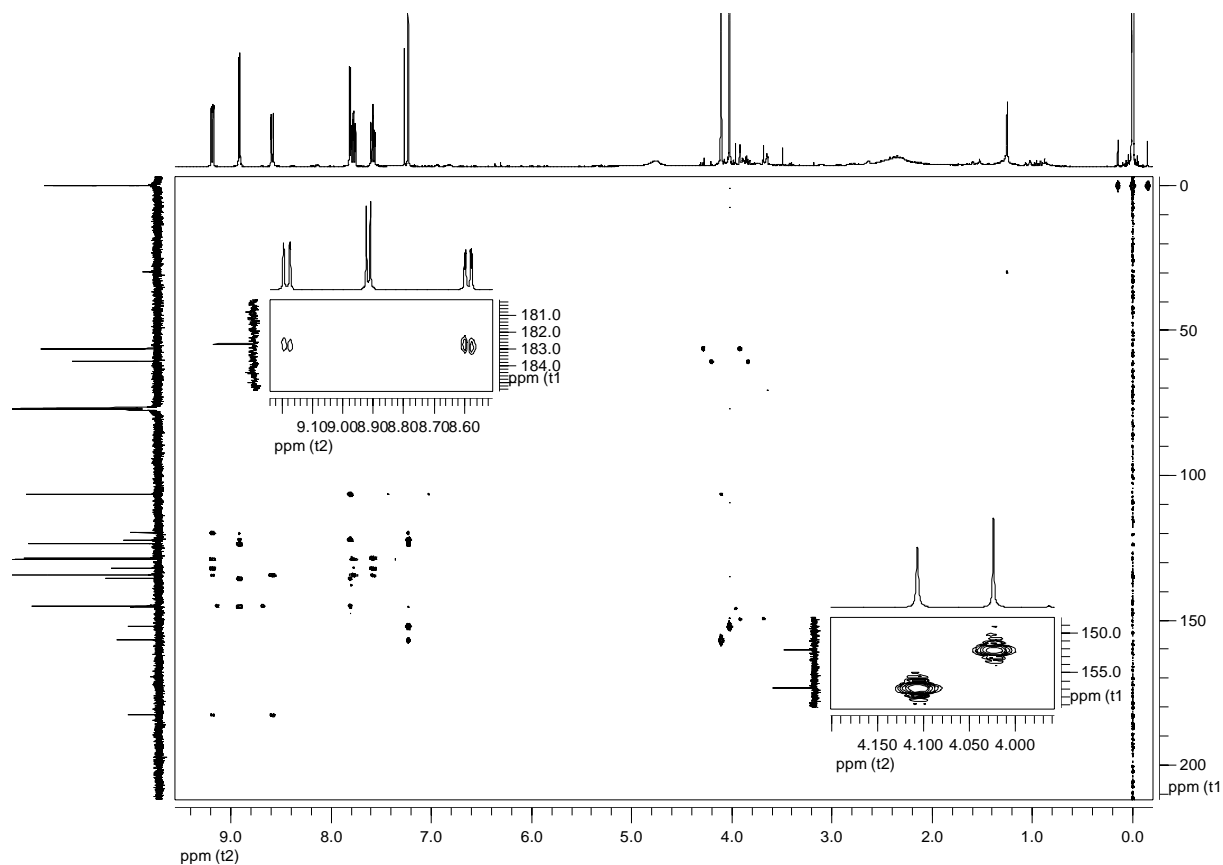
E142. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G26**.



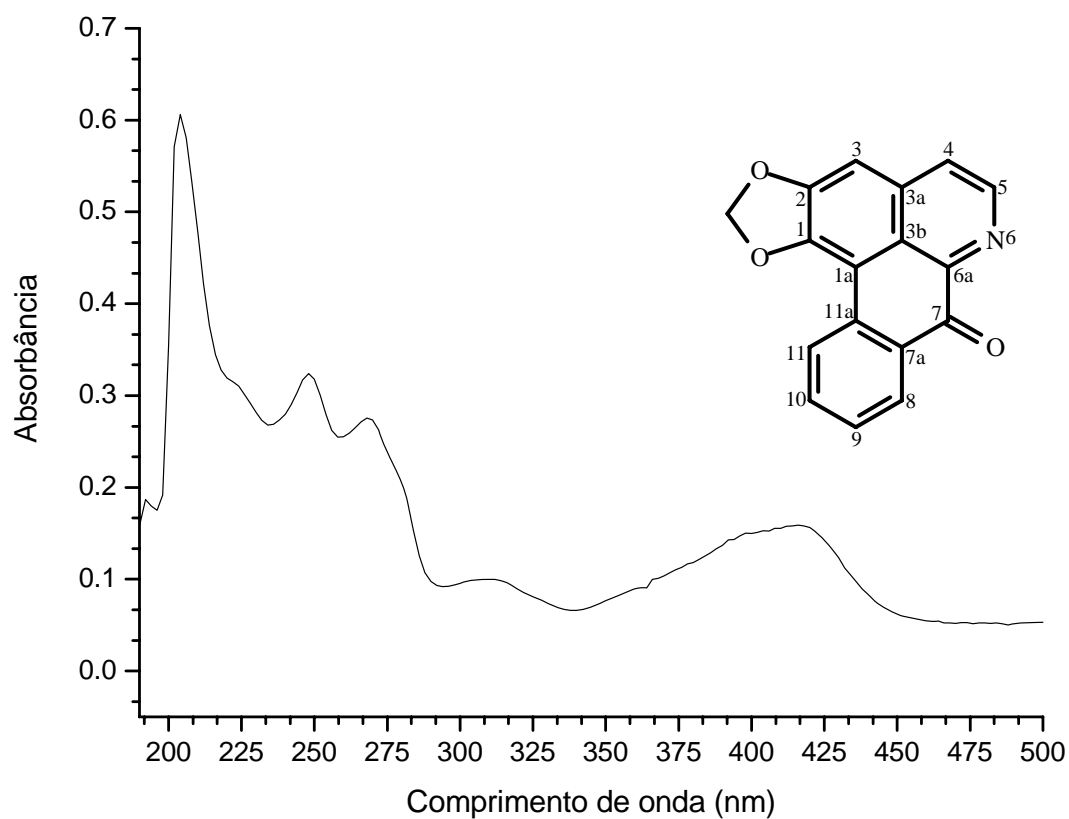
E143. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G26**.



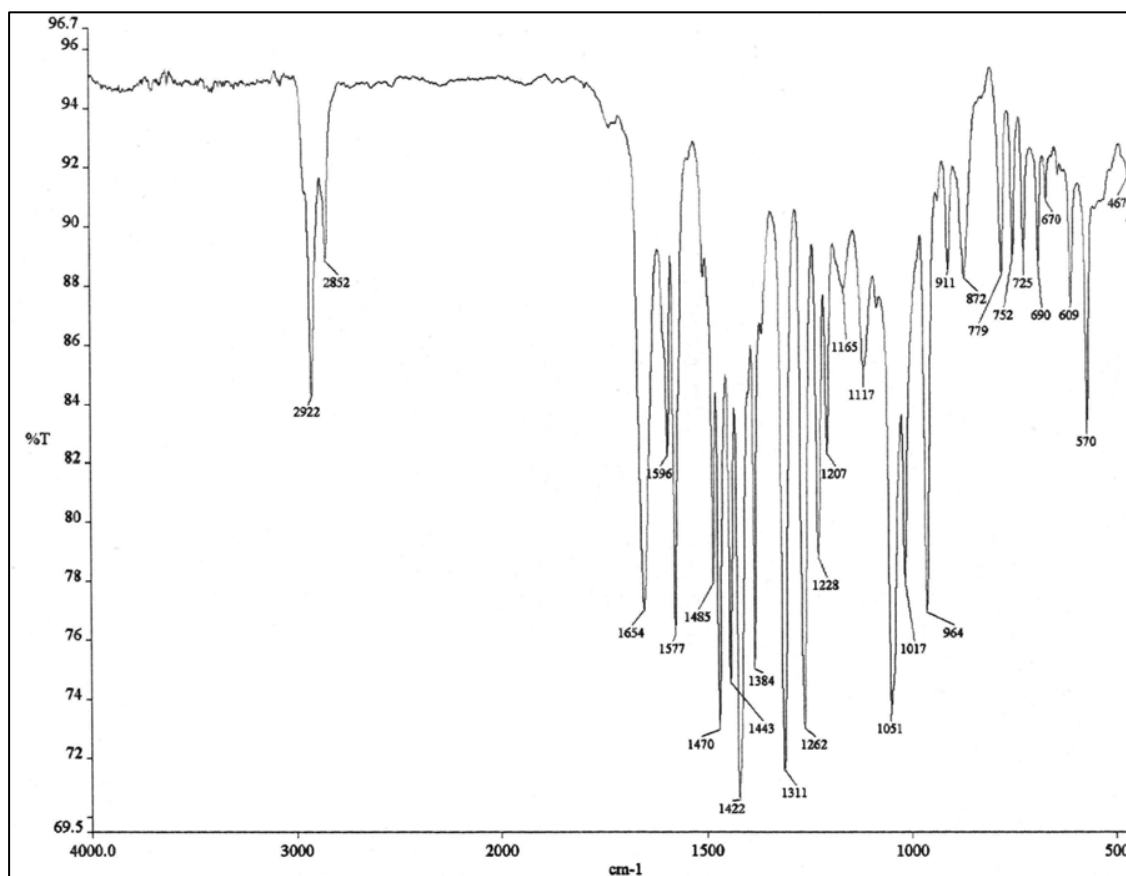
E144. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G26**.



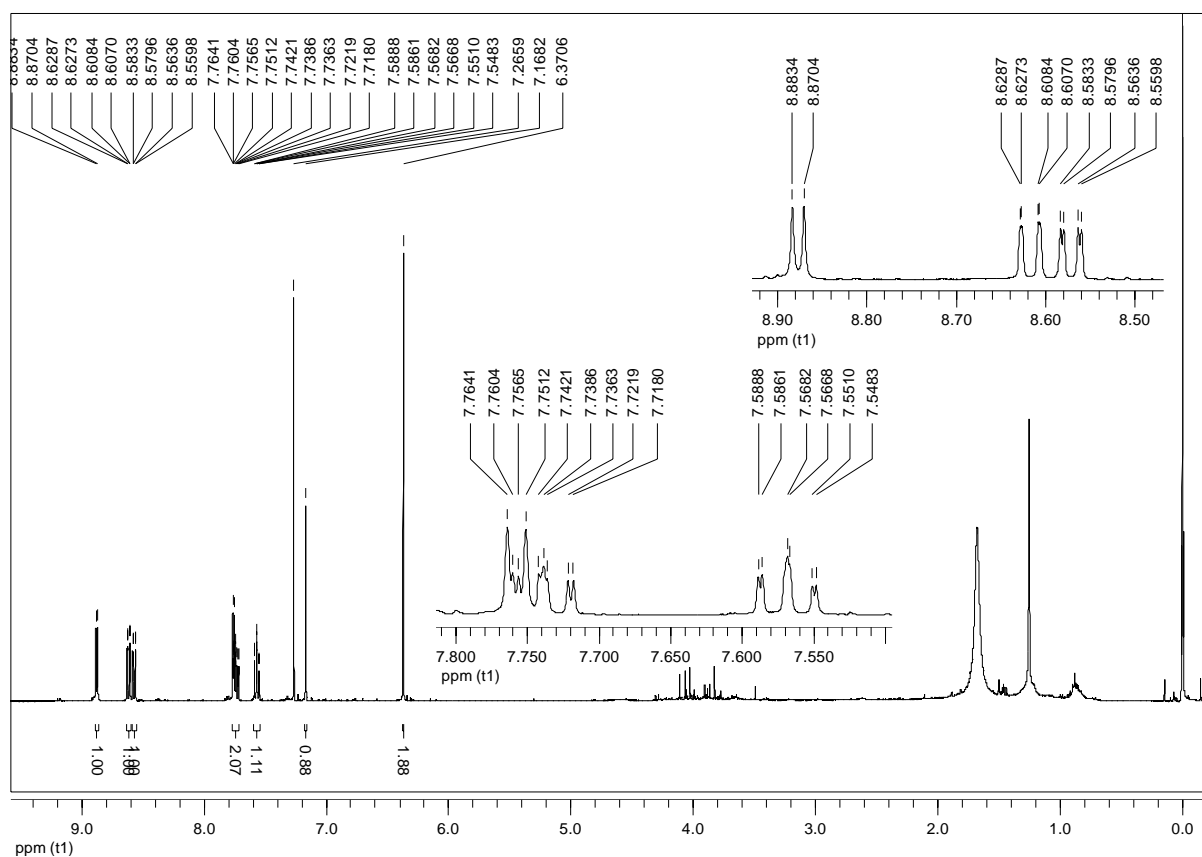
E145. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G26**.



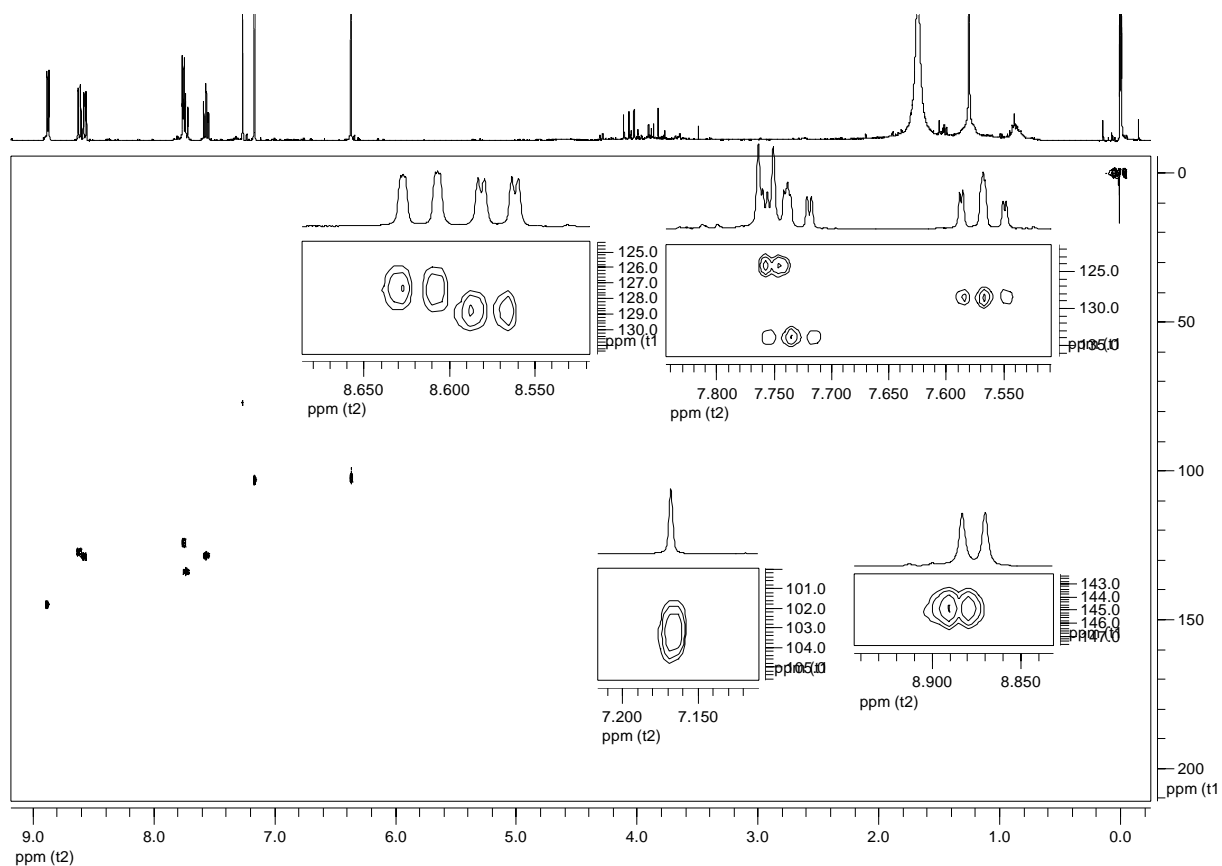
E146. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G28**.



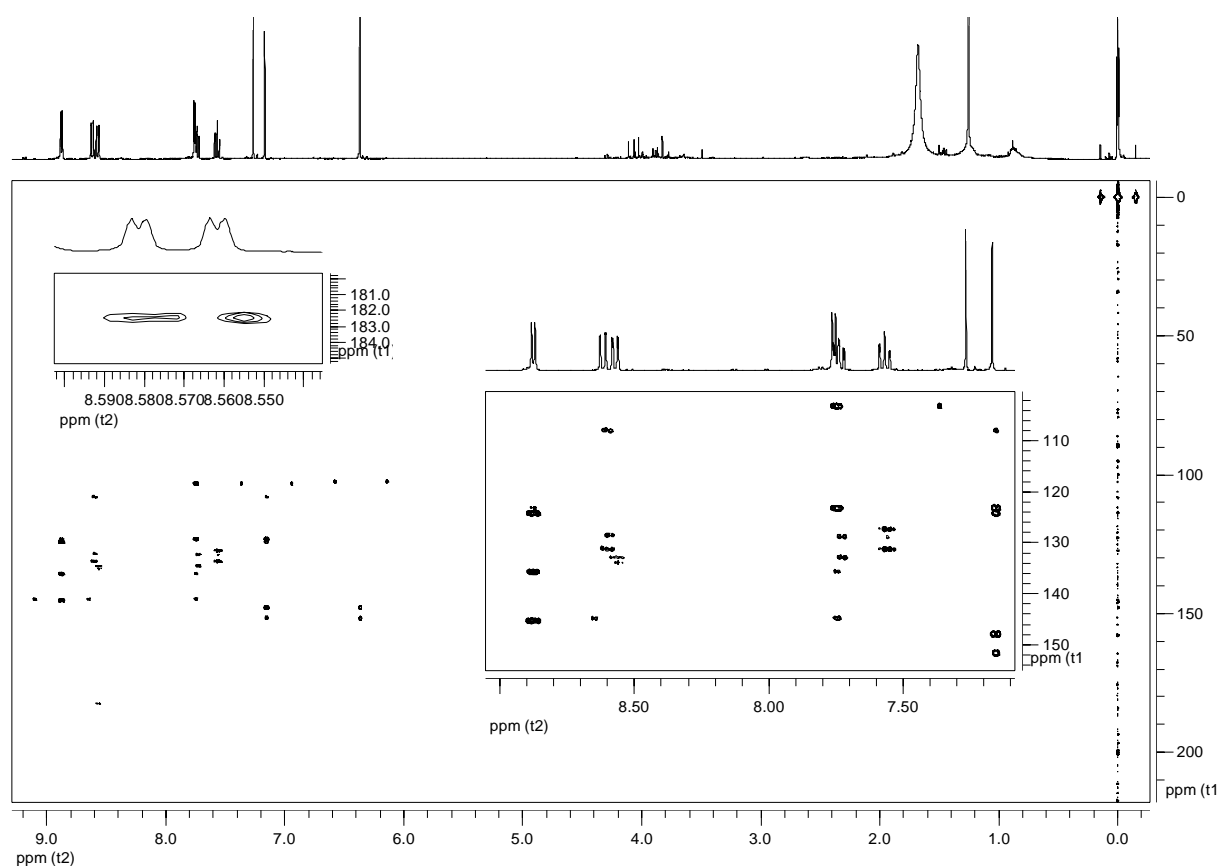
E147. Espectro de absorção na região do IV (Filme, CHCl_3) de **G28**.



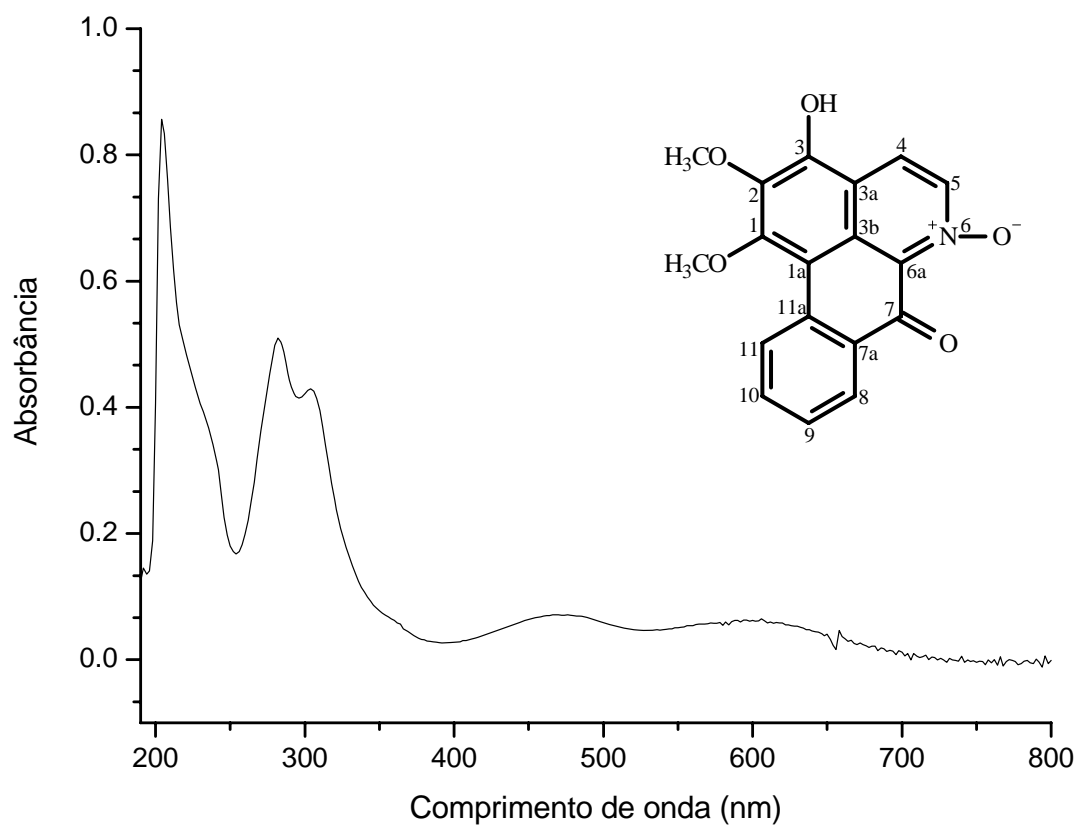
E148. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G28**.



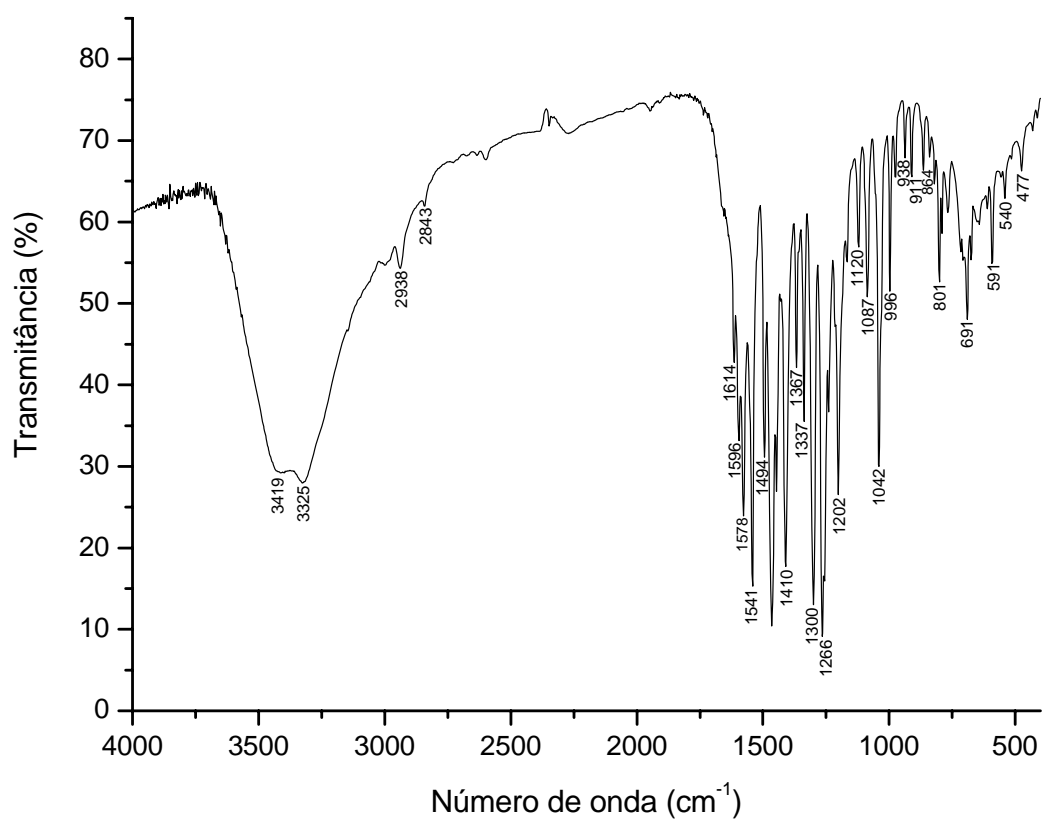
E149. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G28**.



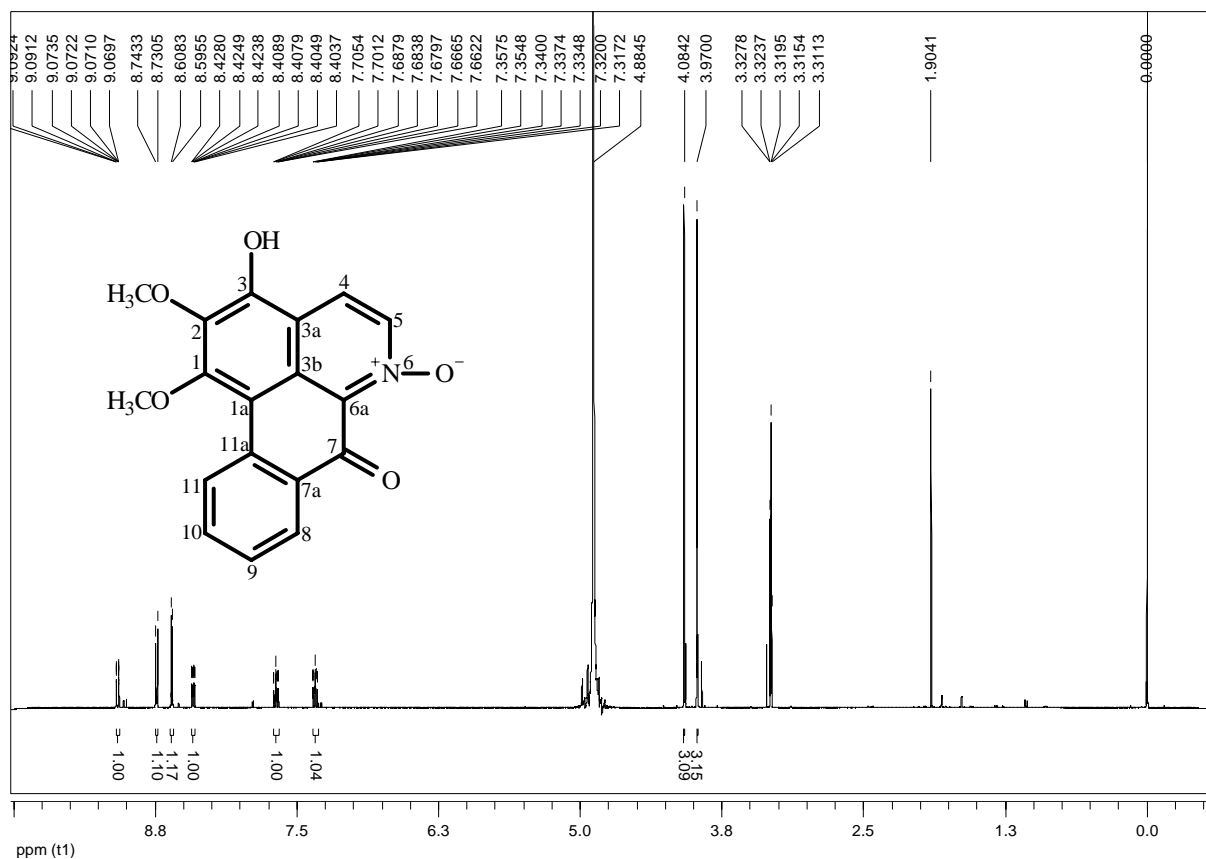
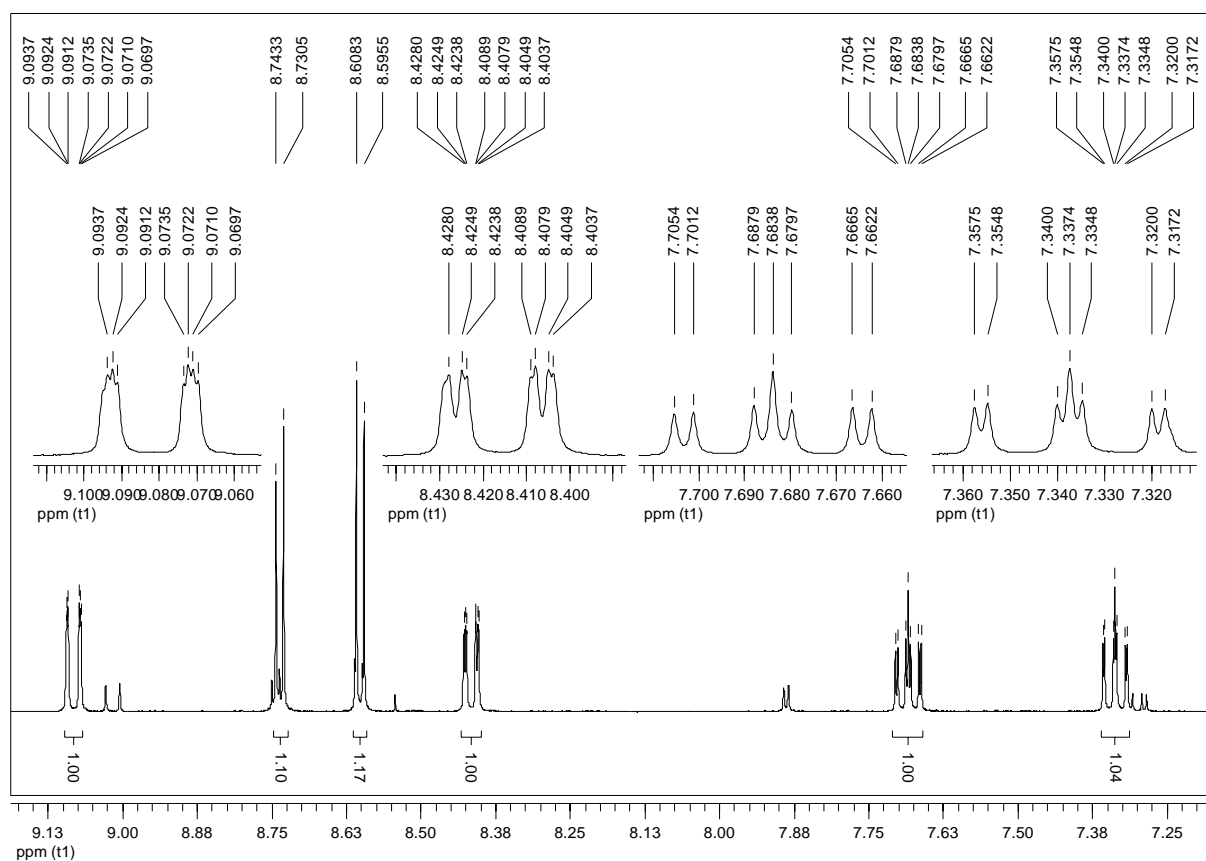
E150. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G28**.

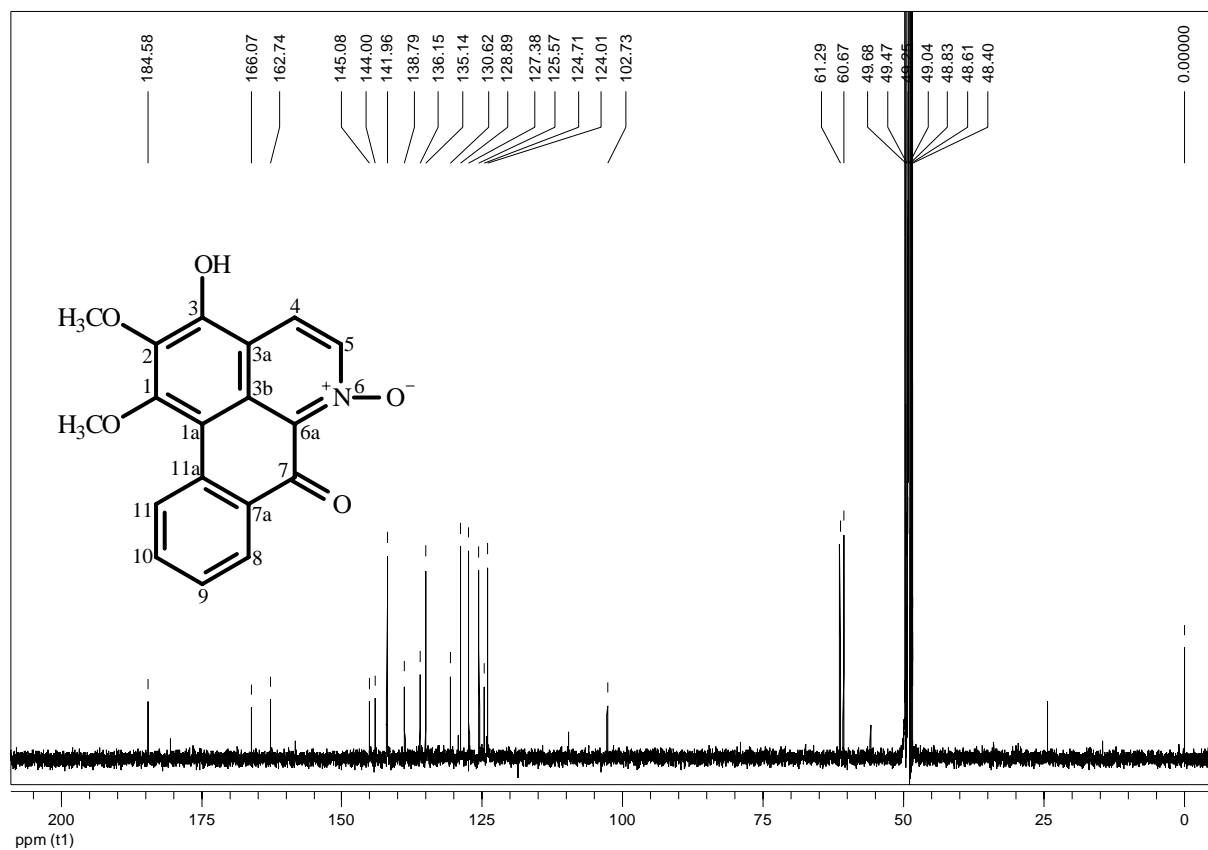


E151. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G34**.

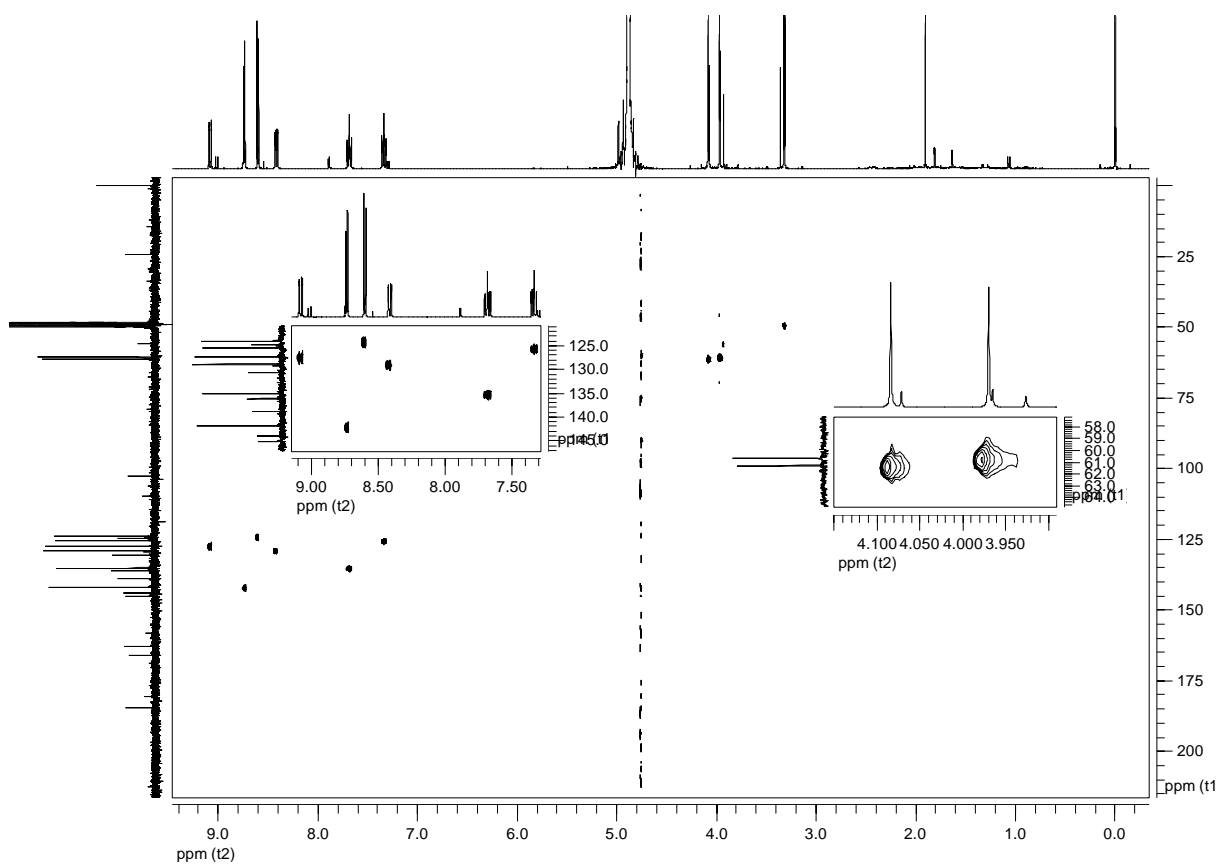


E152. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G34**.

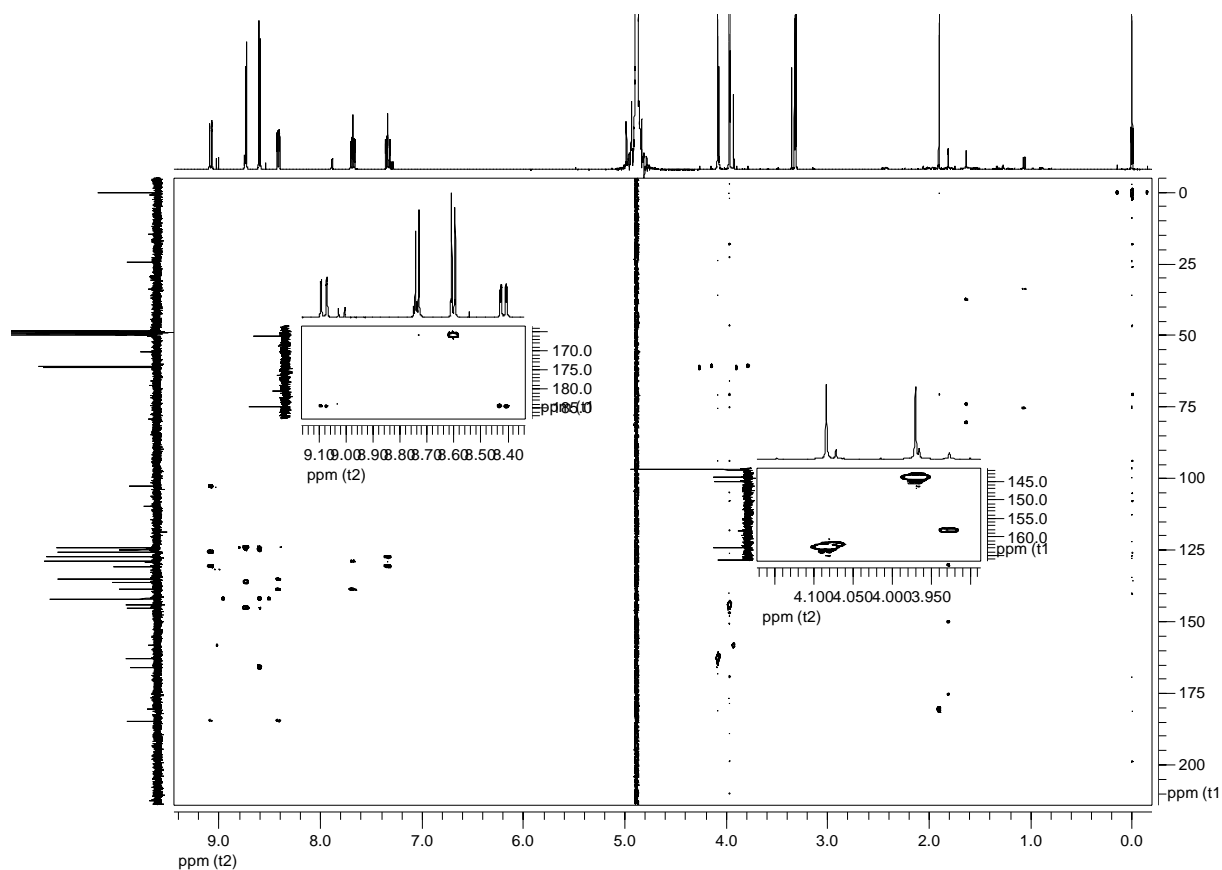
E153. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de G34.E154. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de G34.



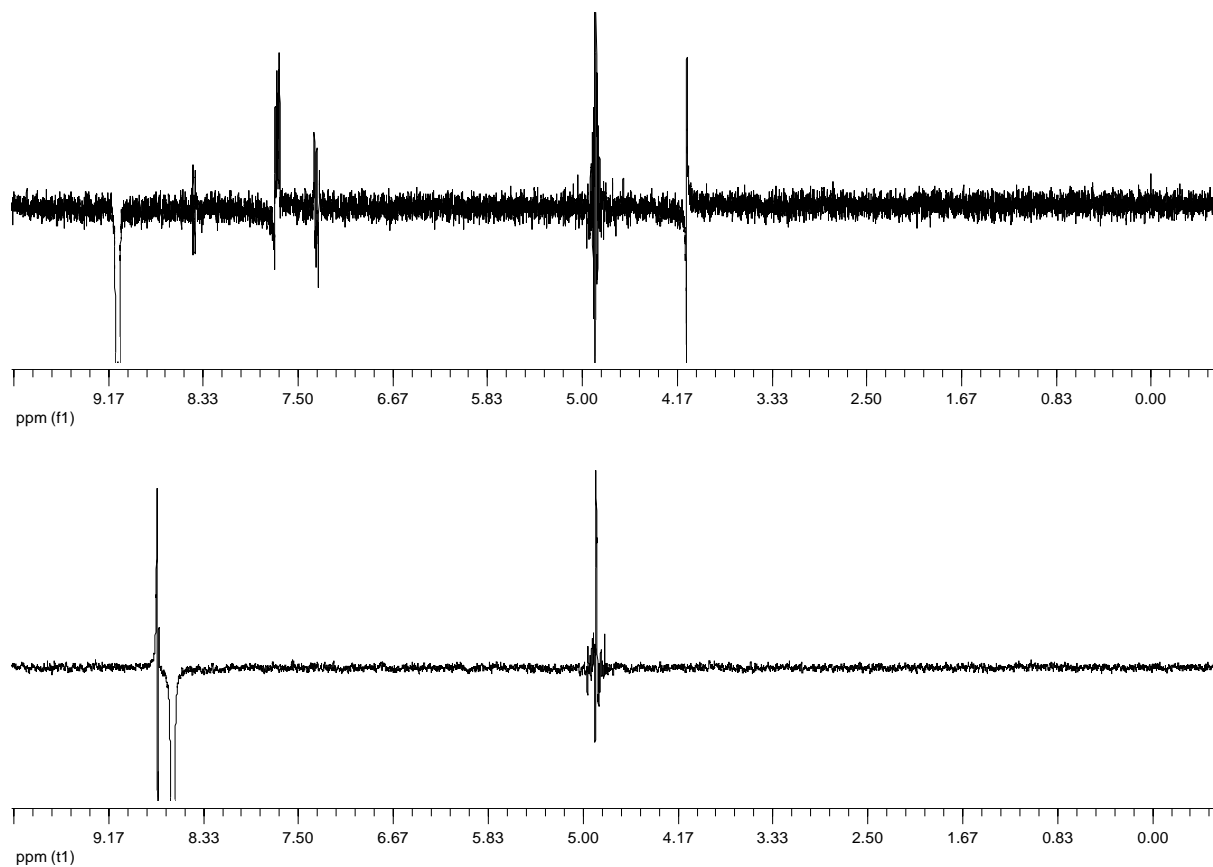
E155. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de **G34**.



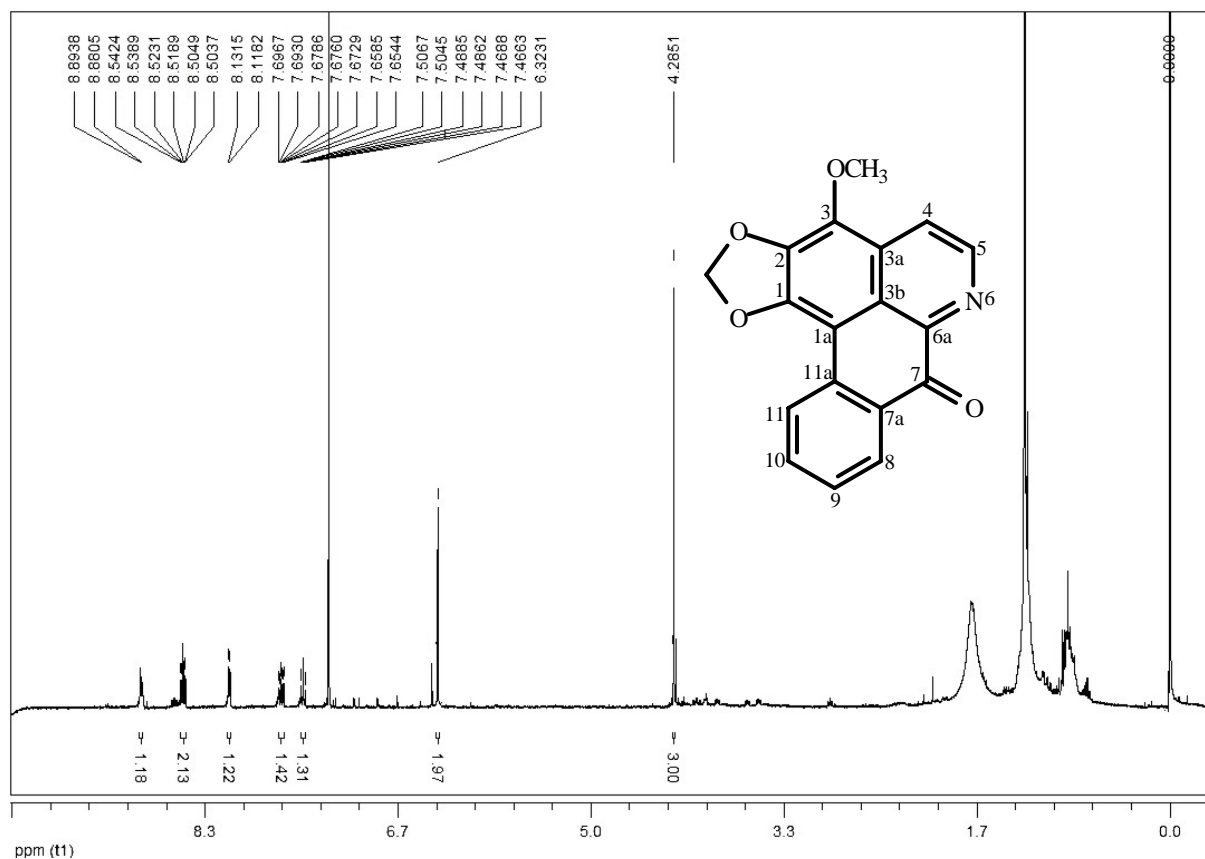
E156. Mapa de contorno gHSQC (^1H 400 MHz, ^{13}C 100 MHz, CD_3OD) de **G34**.



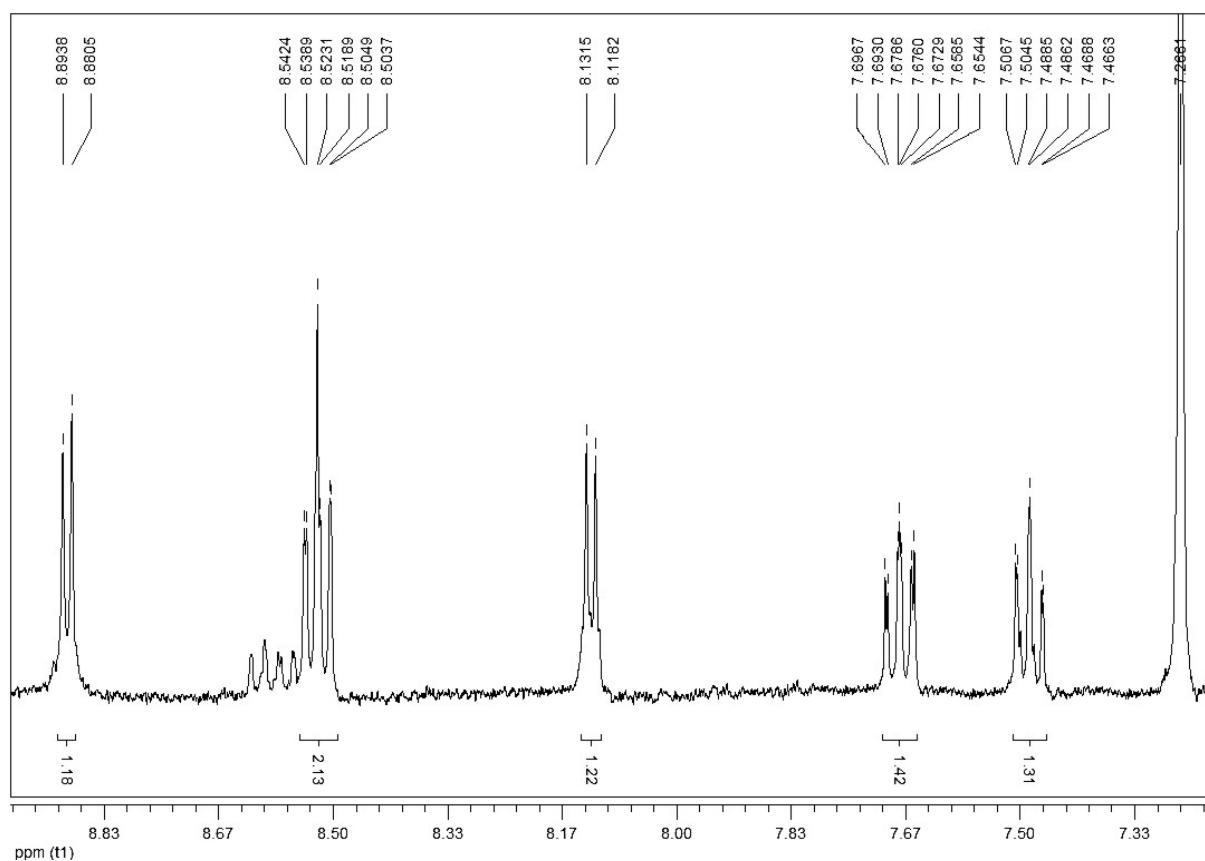
E157. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CD₃OD) de **G34**.



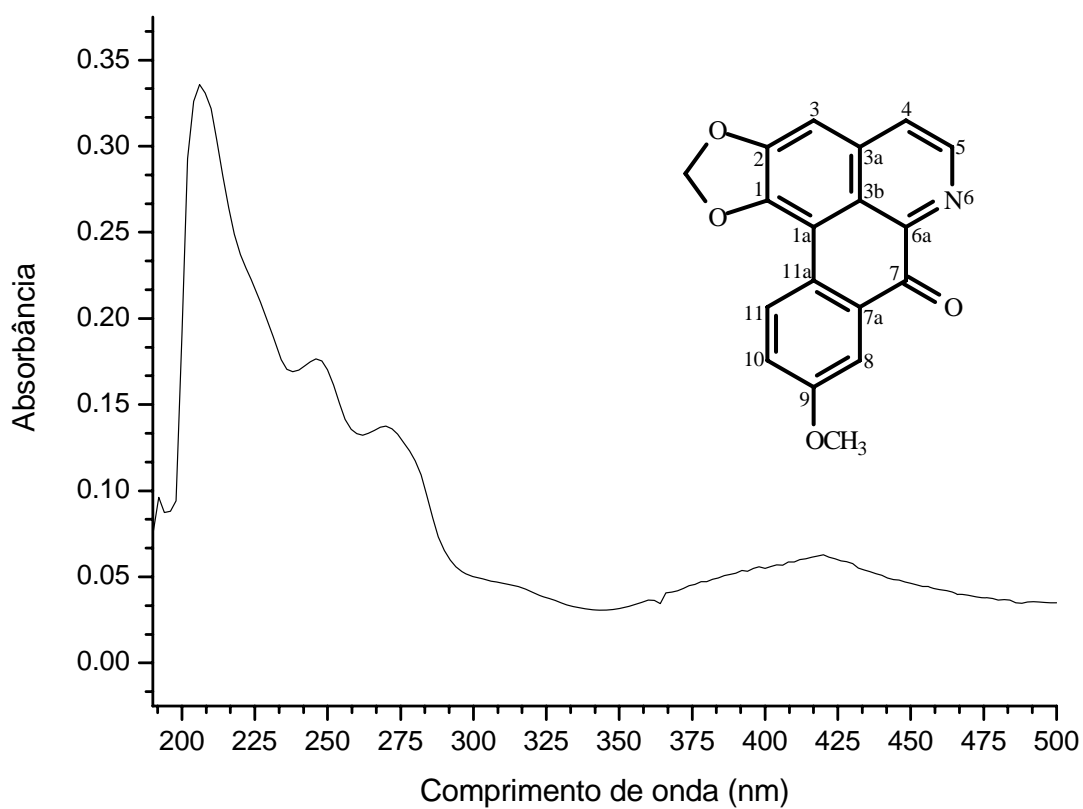
E158. Experimentos de NOE 1D (400 MHz, CD₃OD) de **G34**.



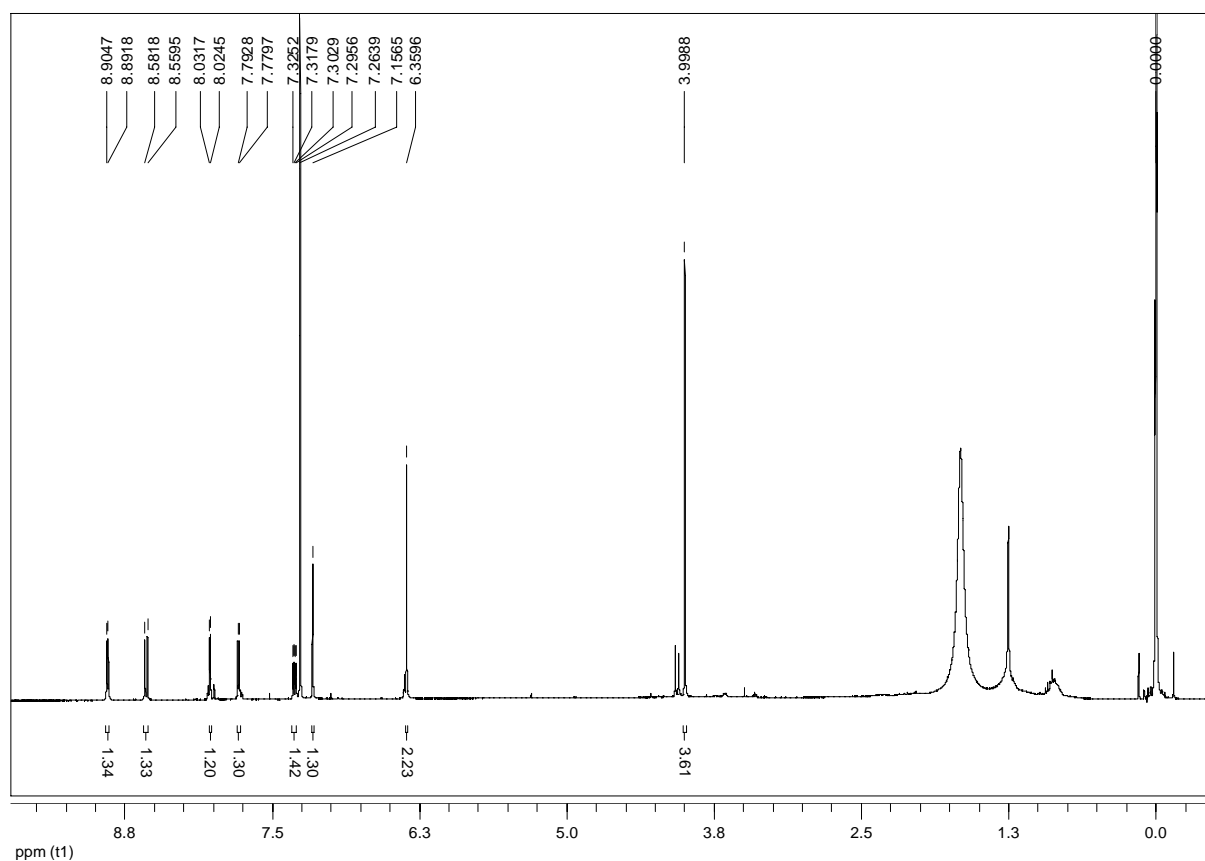
E159. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G40**.



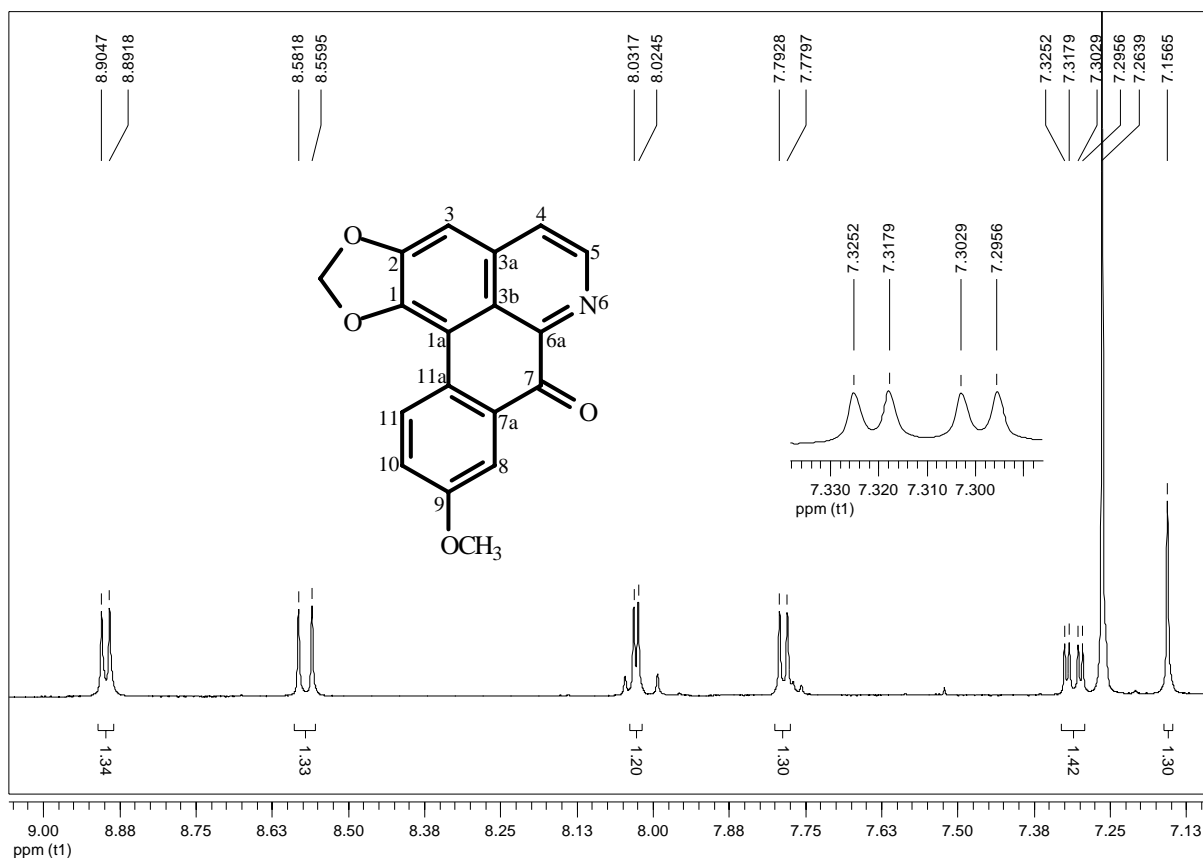
E160. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G40**.



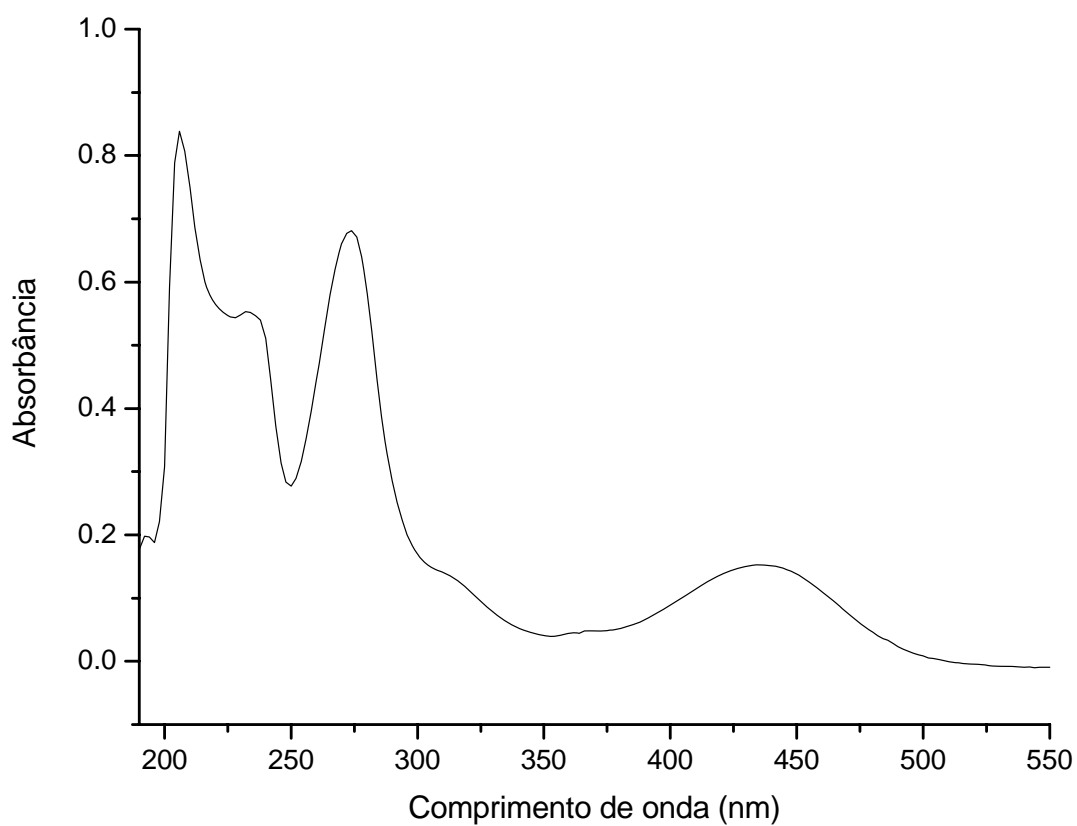
E161. Espectro de absorção na região do UV (CH₃OH) de **G41**.



E162. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G41**.



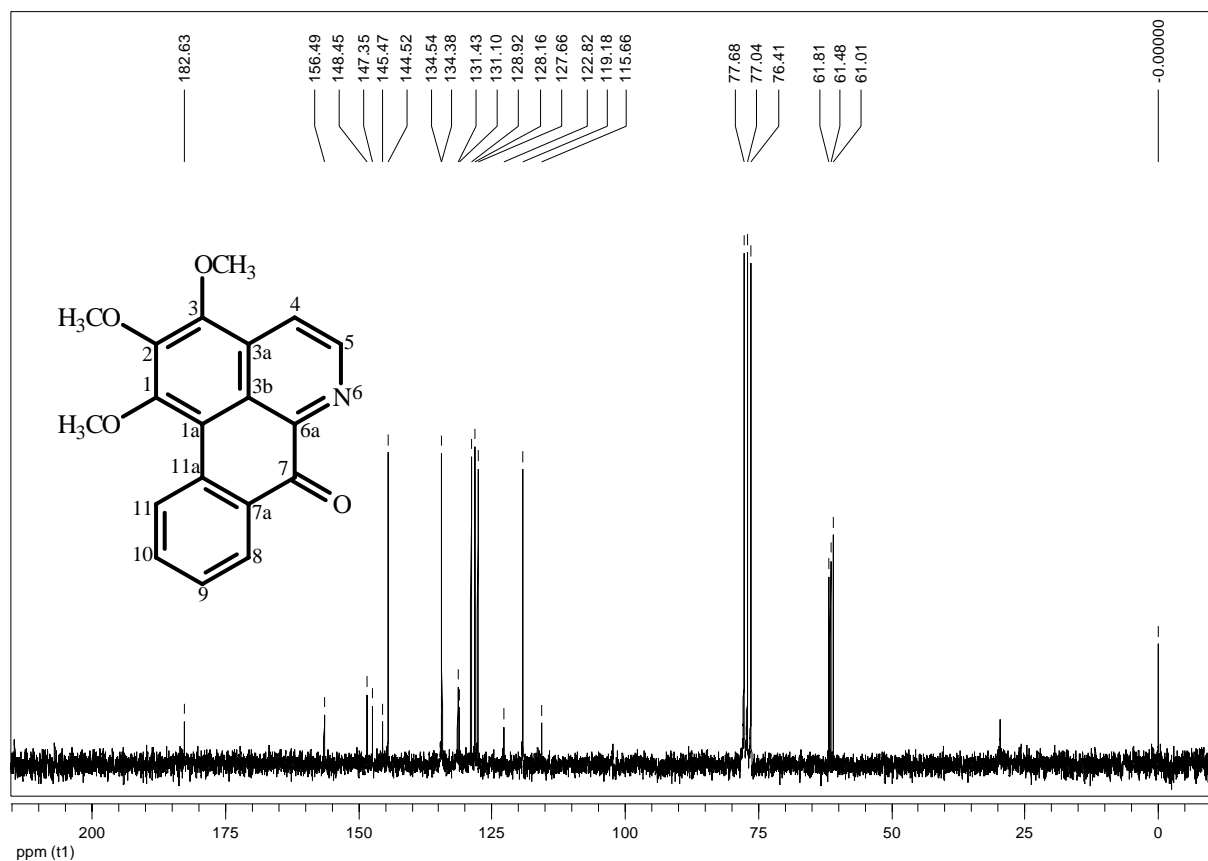
E163. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G41**.



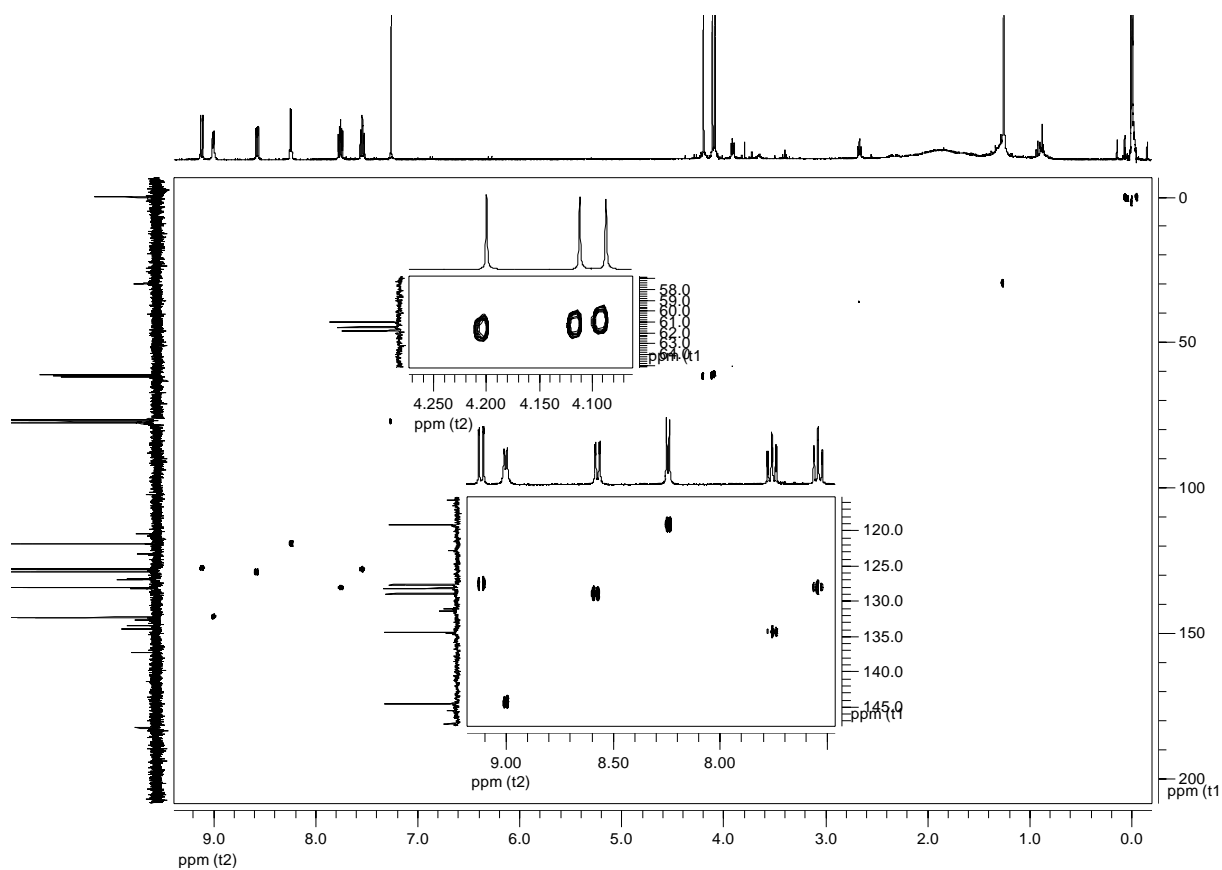
E164. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G45**.

¹H NMR spectrum of compound **1** in CDCl₃. The spectrum shows peaks from 0 to 10 ppm. Key features include a triplet at ~0.9 ppm (3H), a doublet at ~1.2 ppm (3H), a multiplet at ~2.5 ppm (2H), a multiplet at ~3.8 ppm (2H), a multiplet at ~5.5 ppm (2H), a multiplet at ~6.5 ppm (2H), and a multiplet at ~8.5 ppm (2H). Integration values are shown below the baseline.

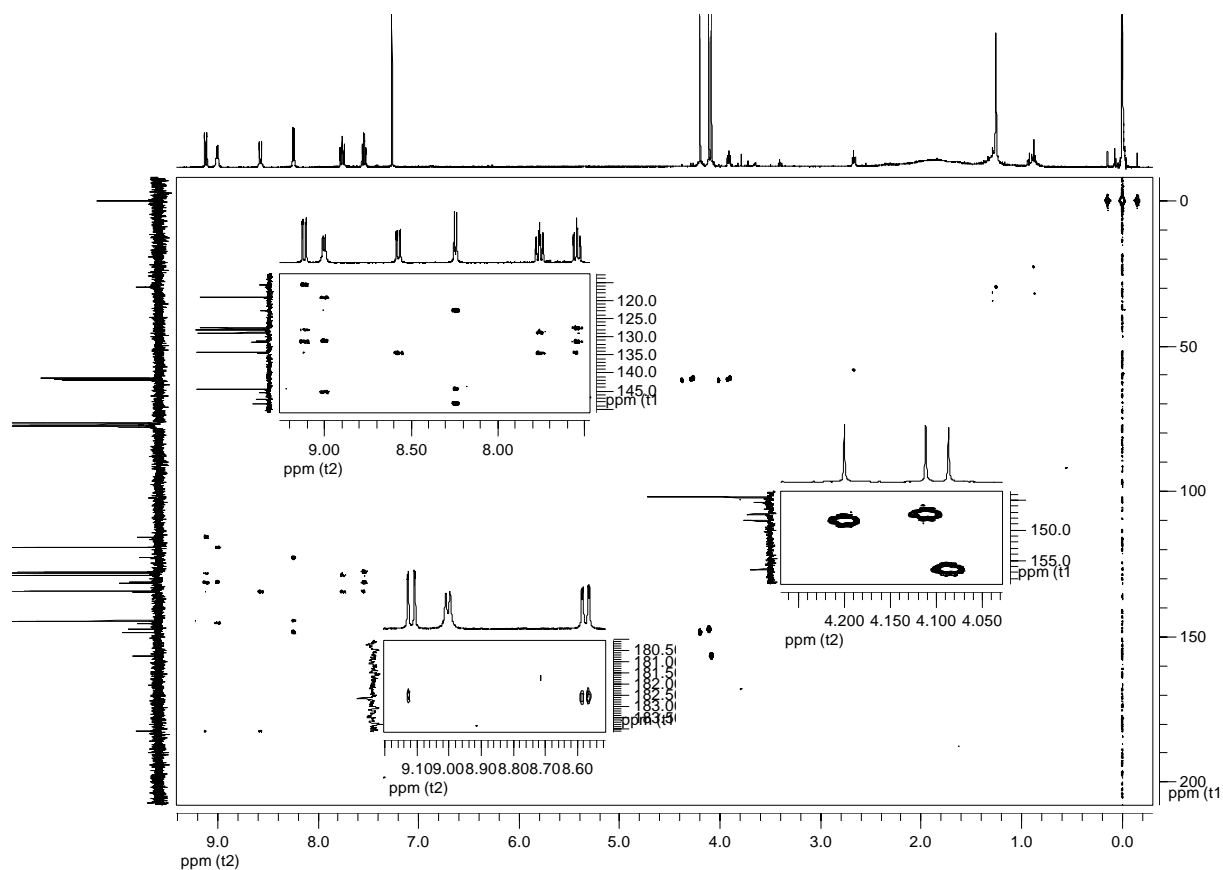
E166. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G45**.



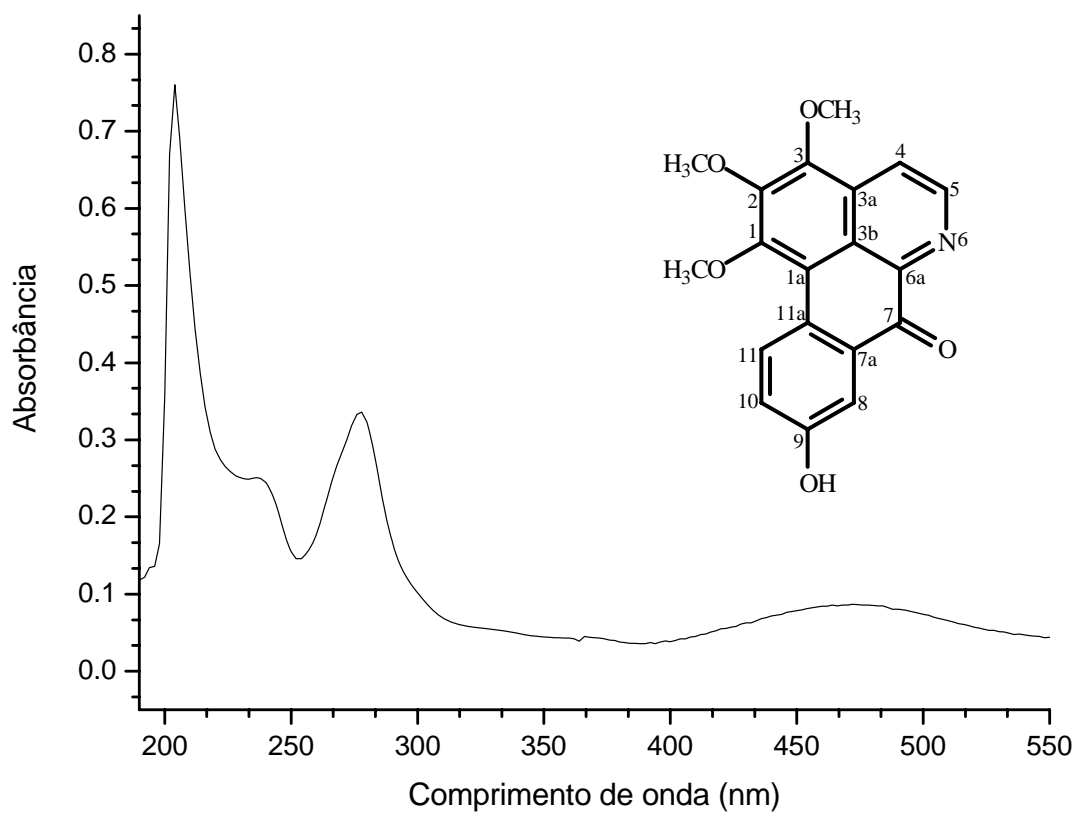
E167. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G45**.



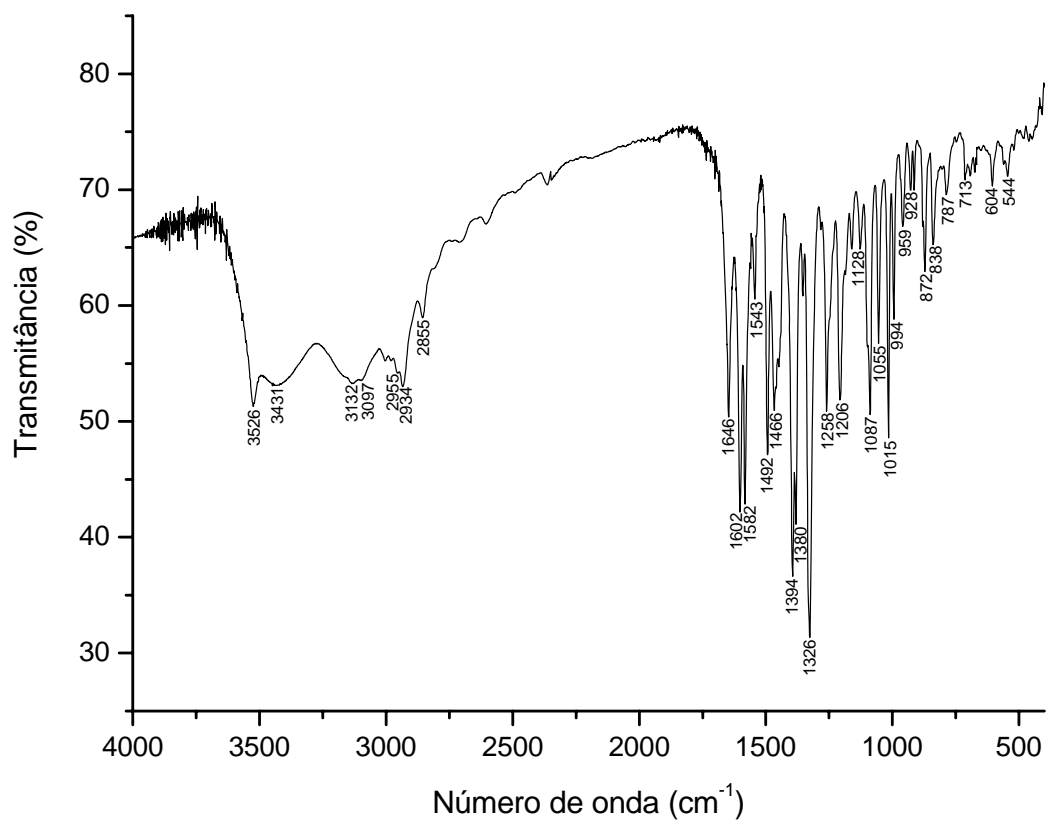
E168. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G45**.



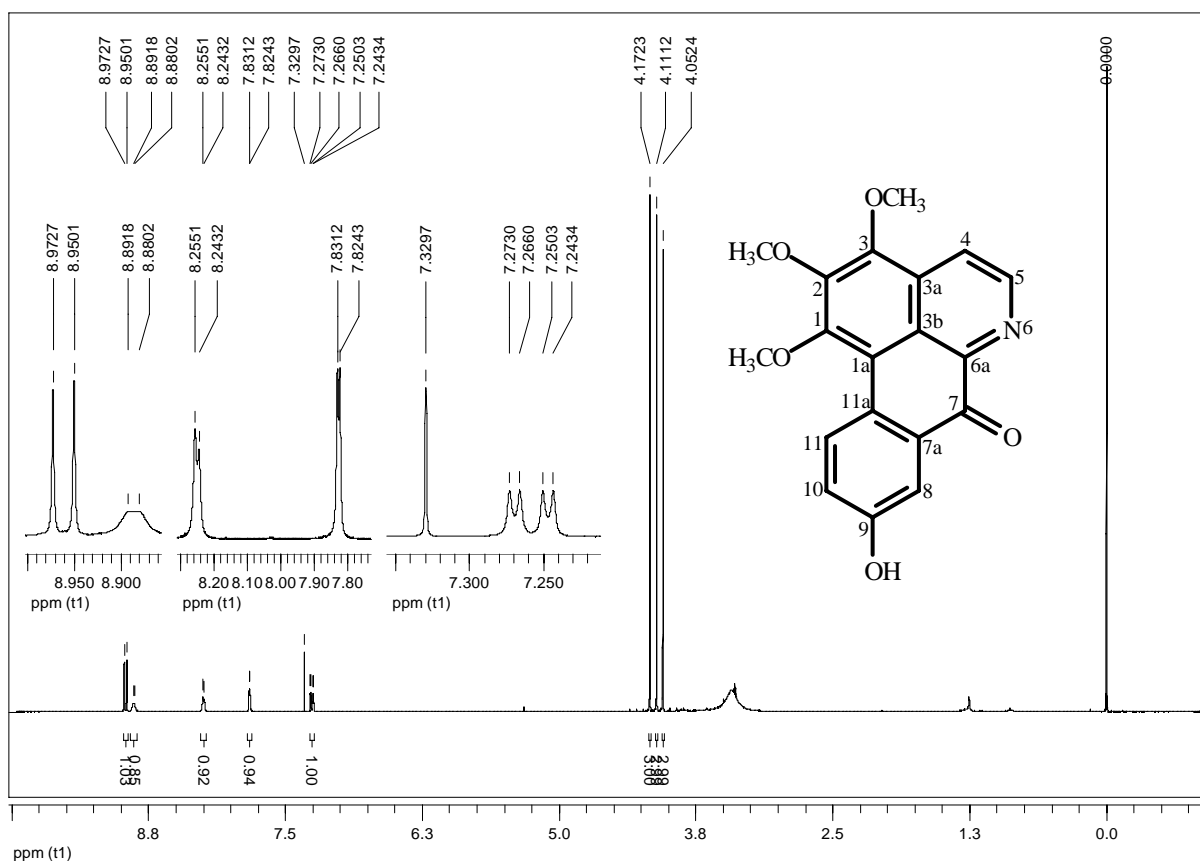
E169. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G45**.



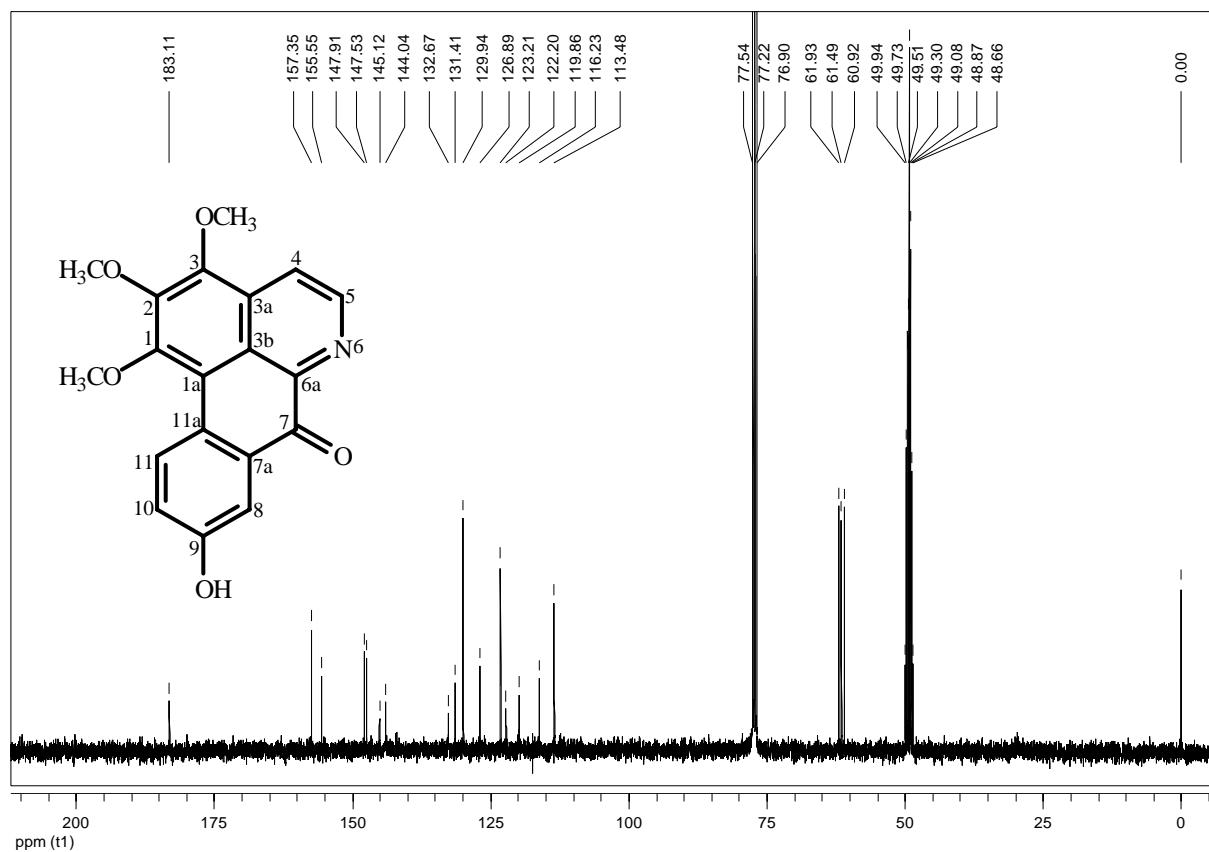
E170. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G48**.



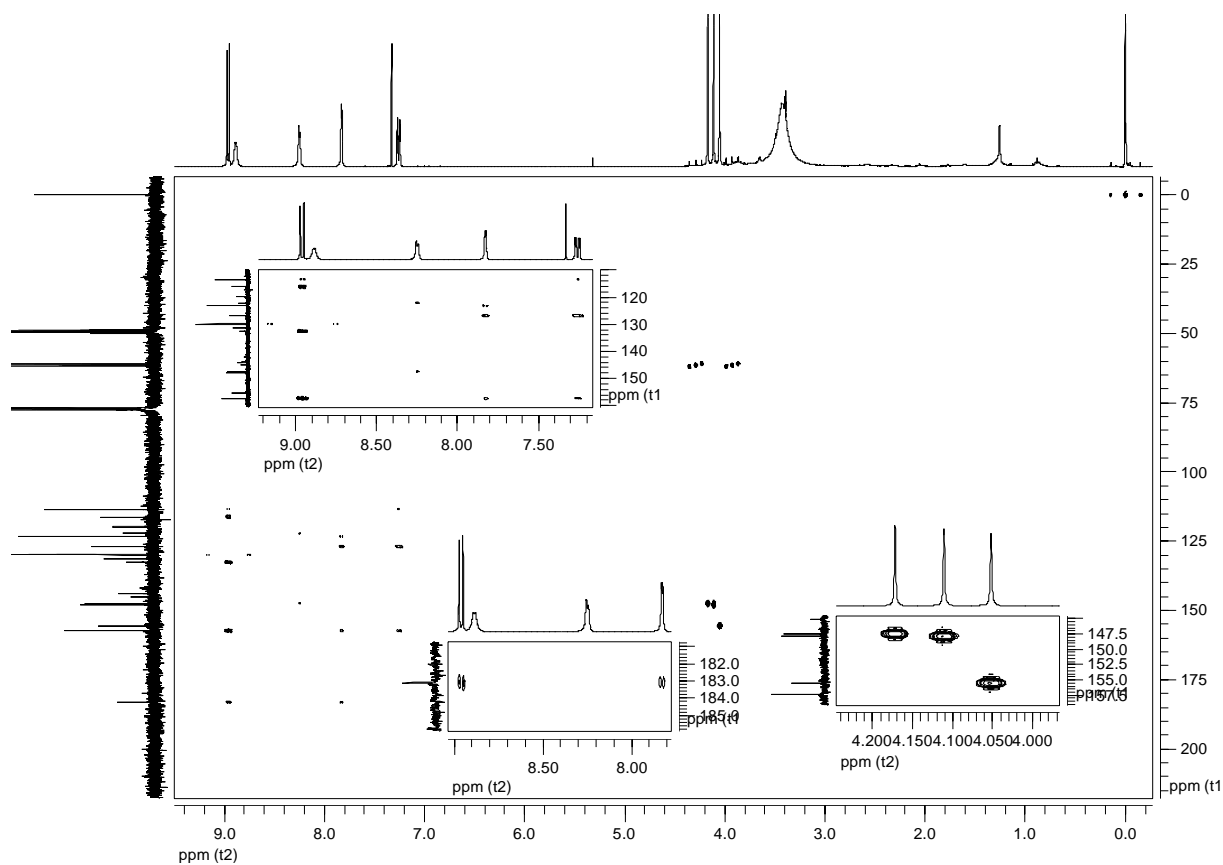
E171. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G48**.



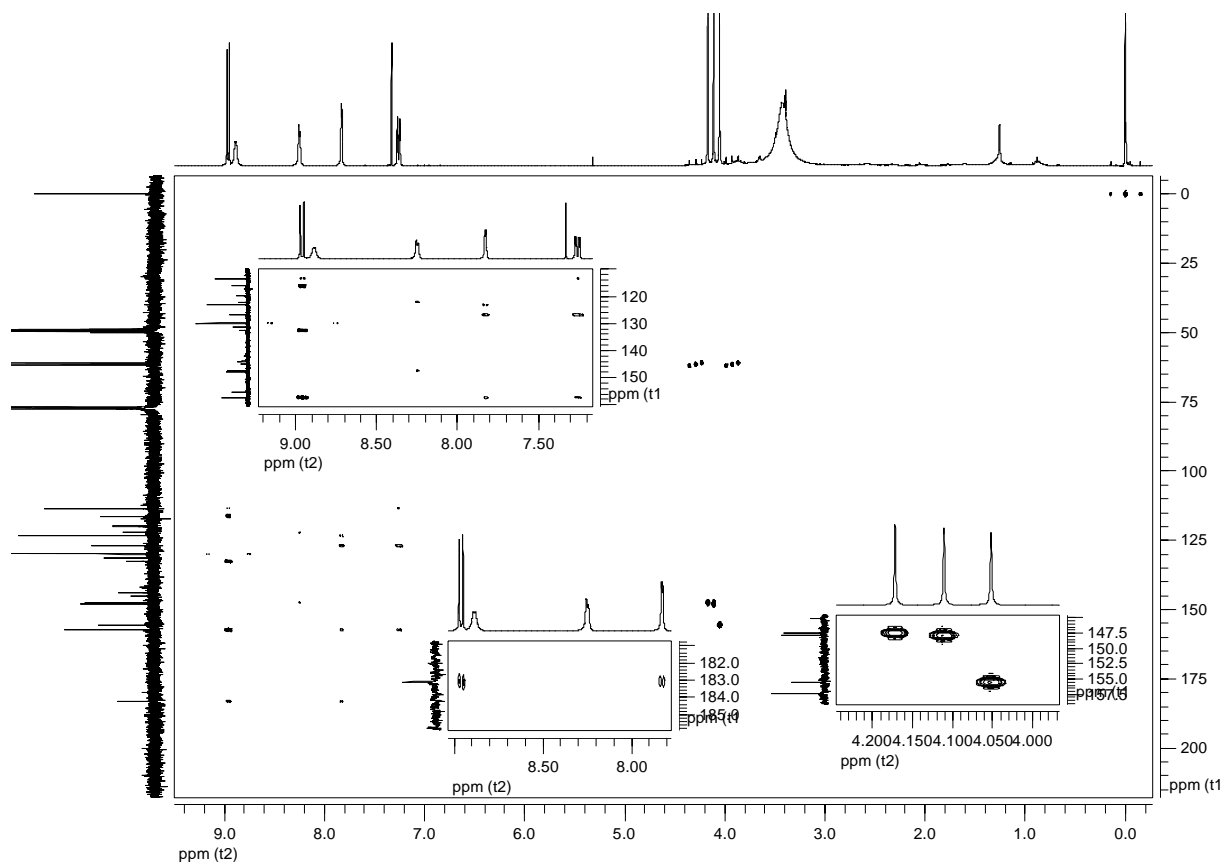
E172. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G48**.



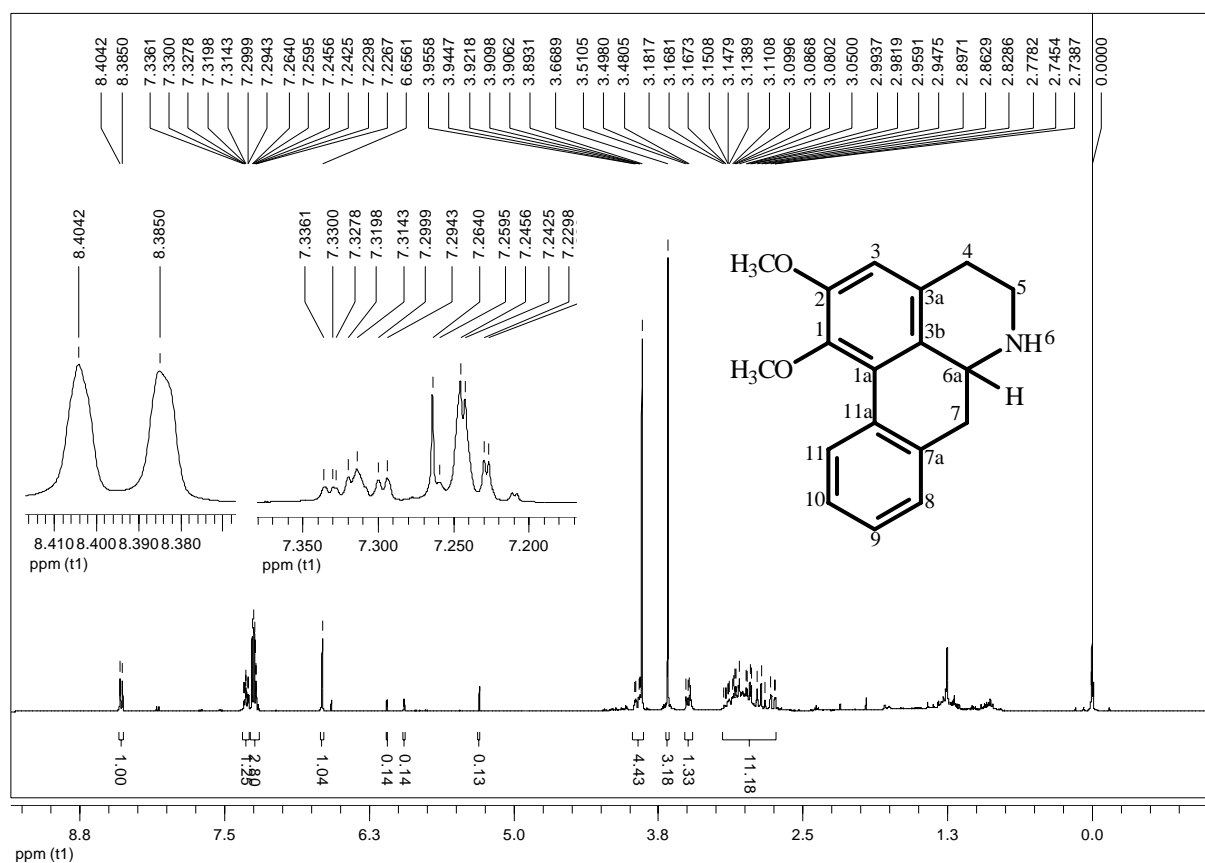
E173. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de G48.



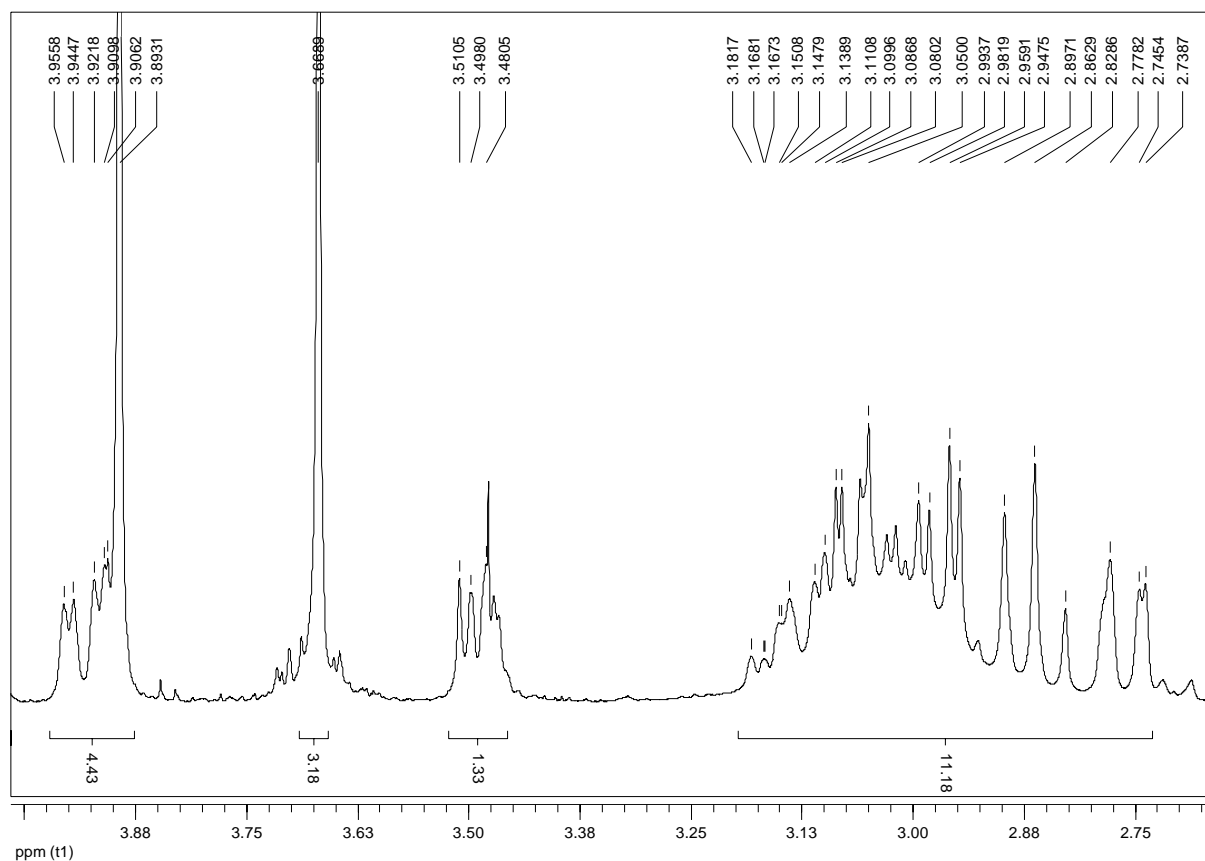
E174. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de G48.



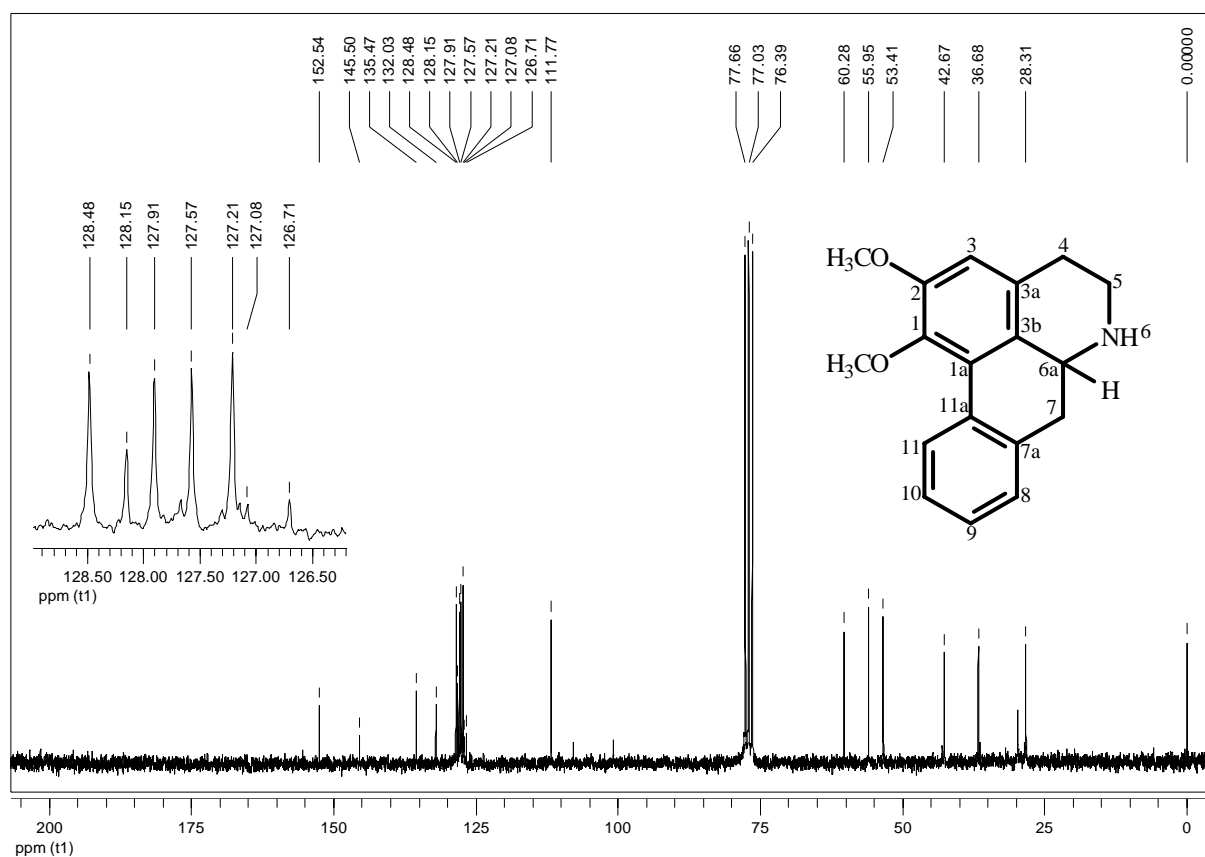
E175. Mapa de contorno gHMBC (^1H 400 MHz, ^{13}C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G48**.



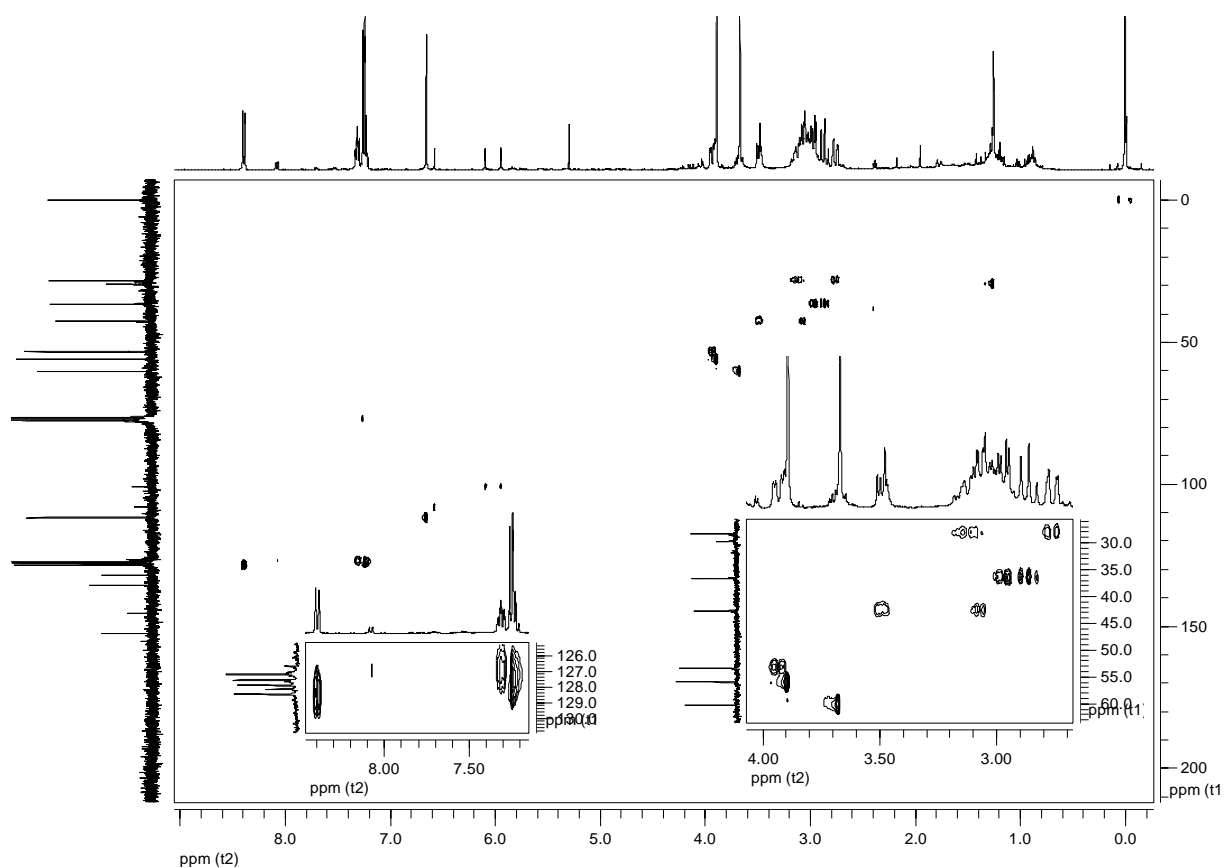
E176. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G46**.



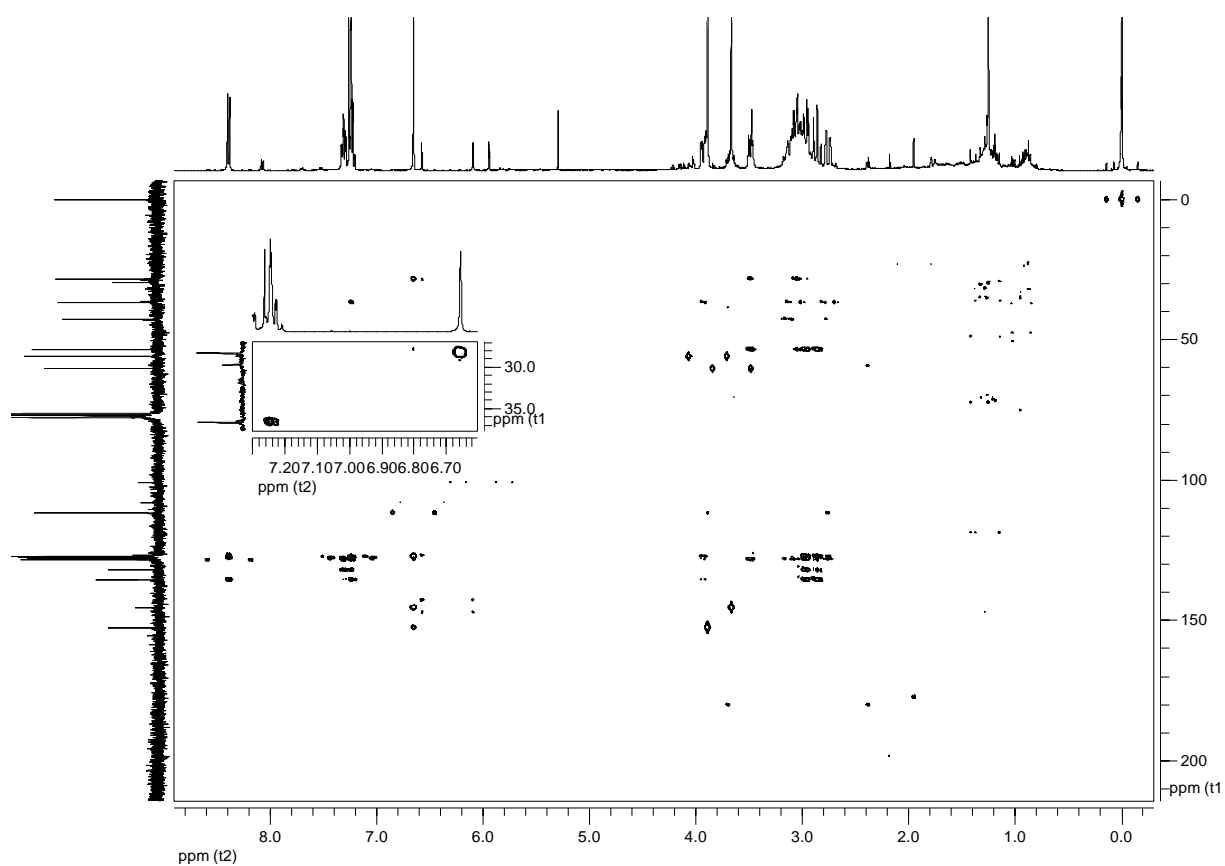
E177. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G46**.



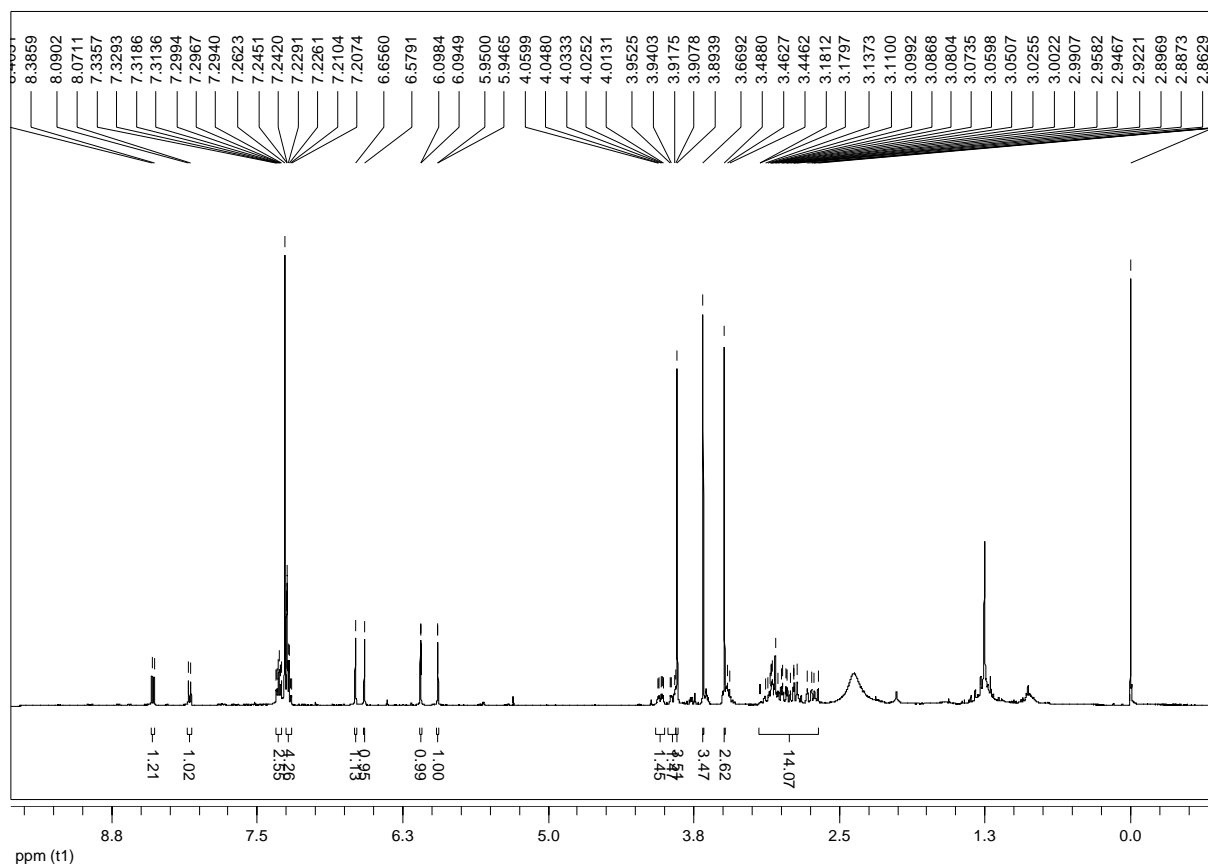
E178. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G46**.



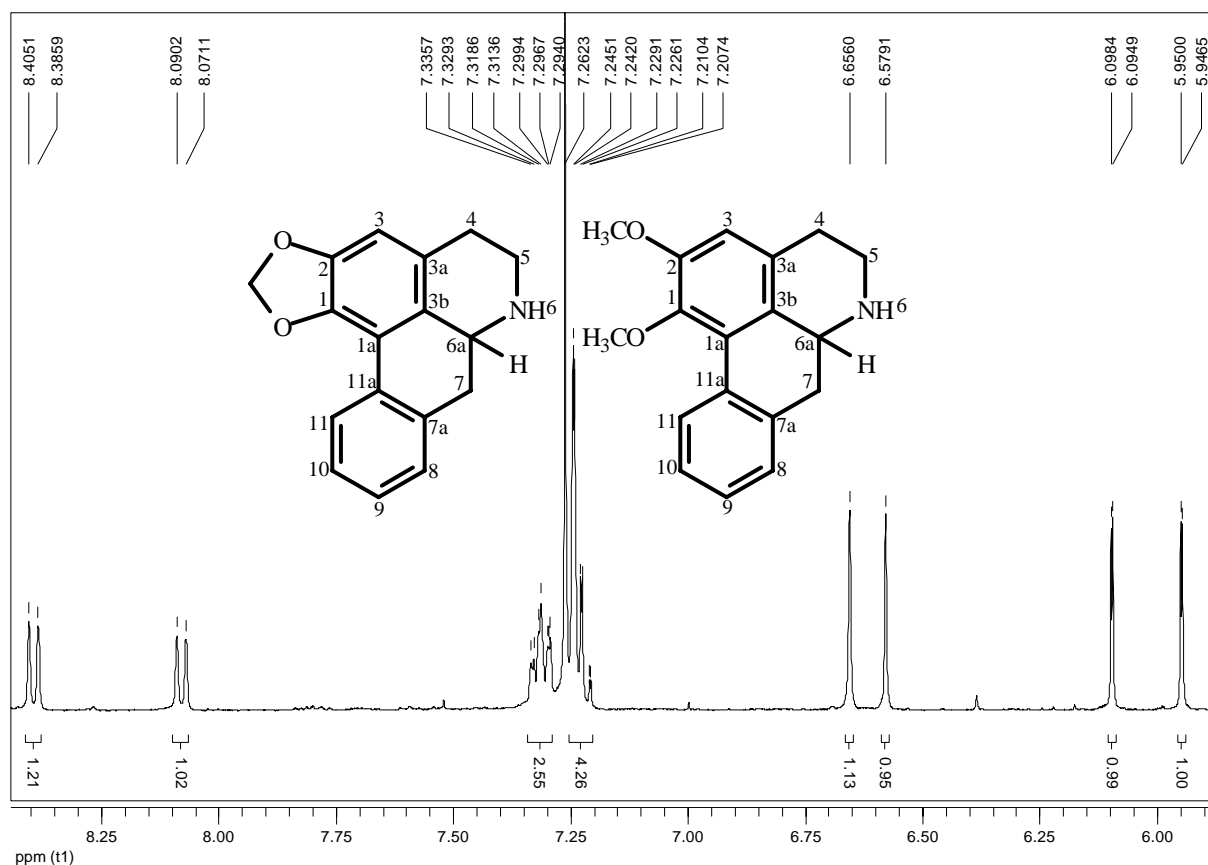
E179. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G46**.



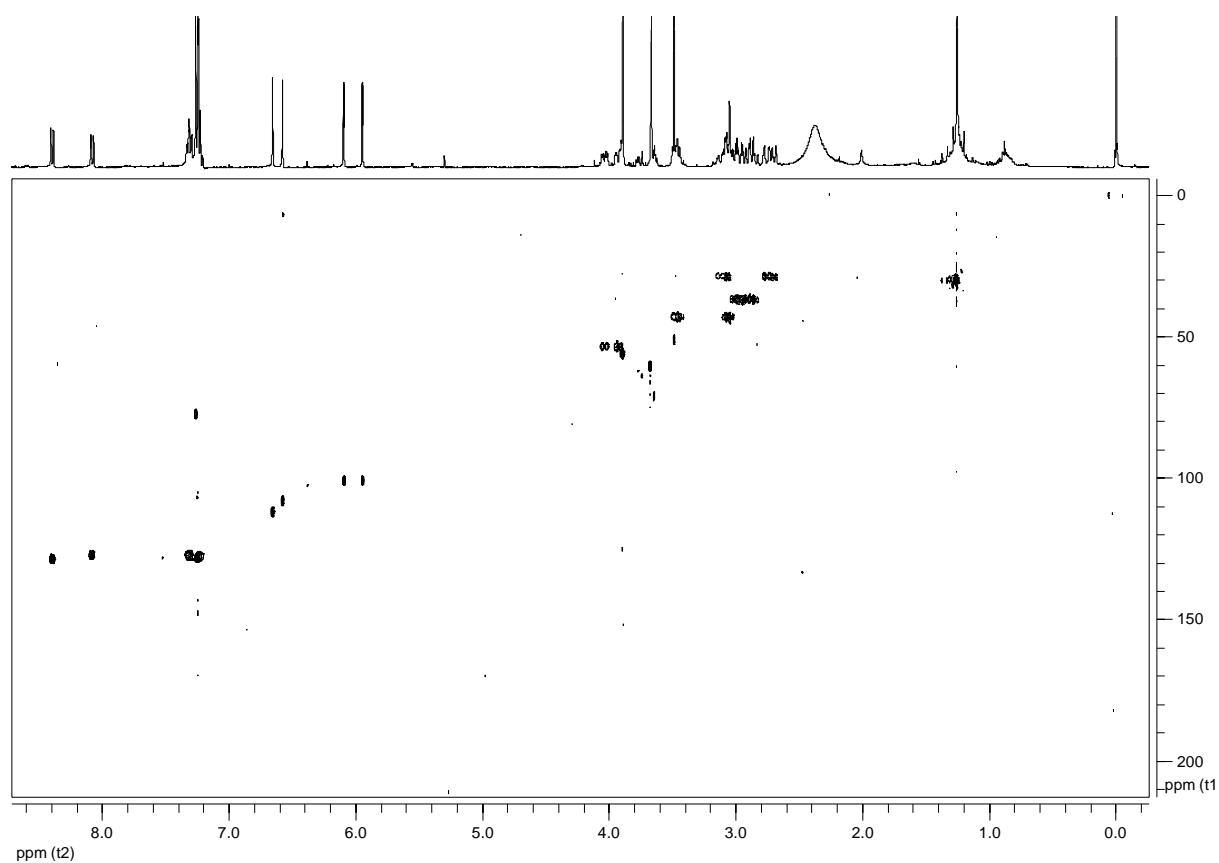
E180. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G46**.



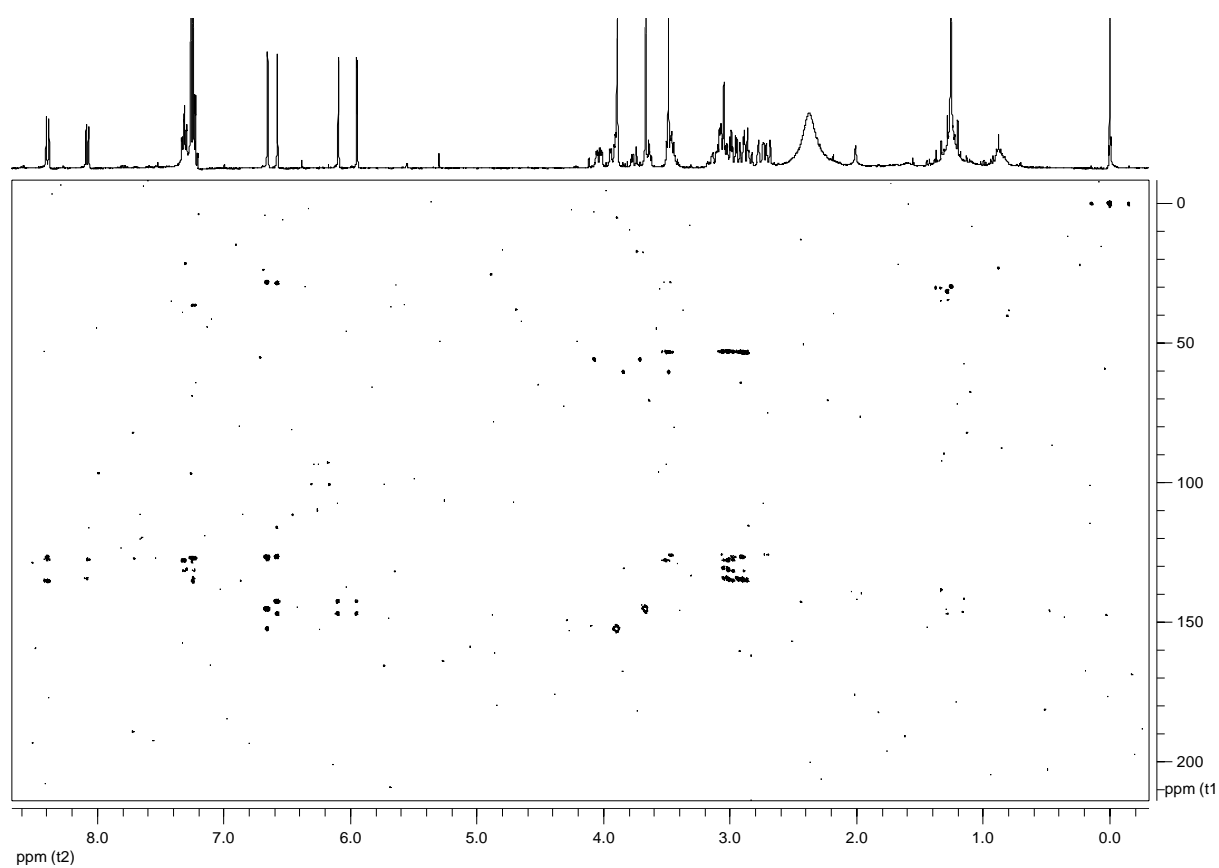
E181. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G49**.



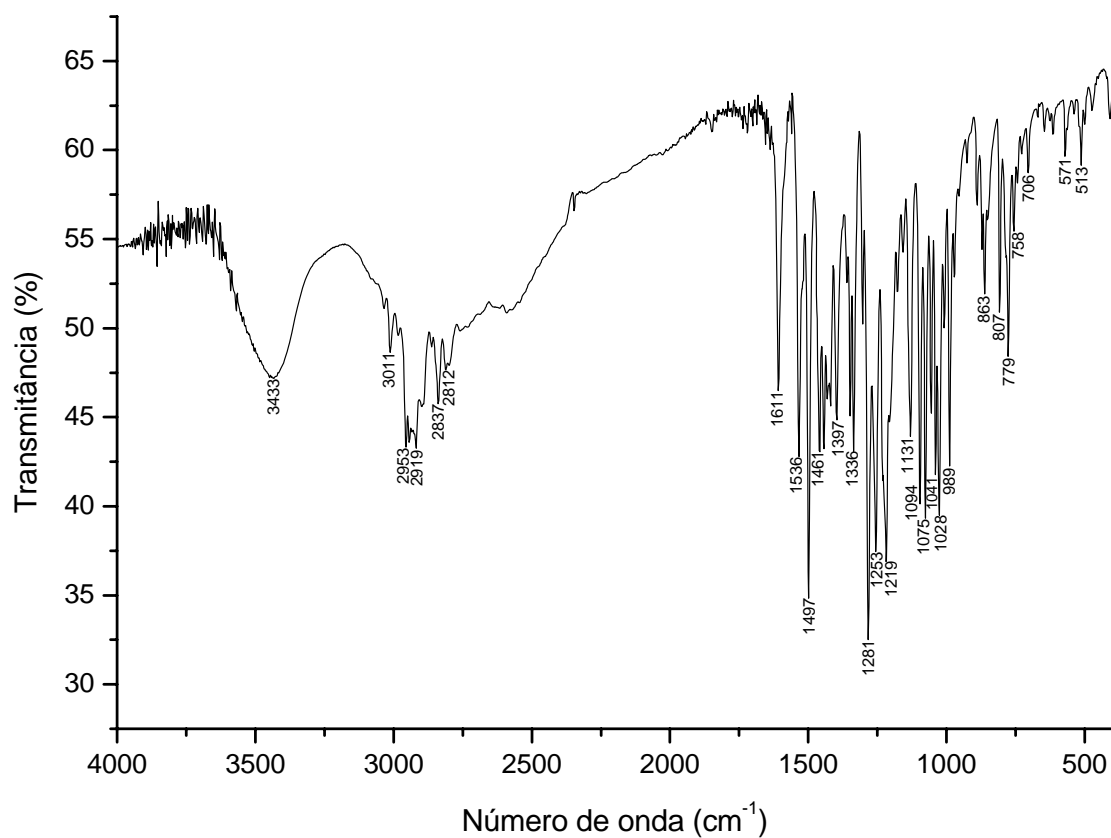
E182. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G49**.



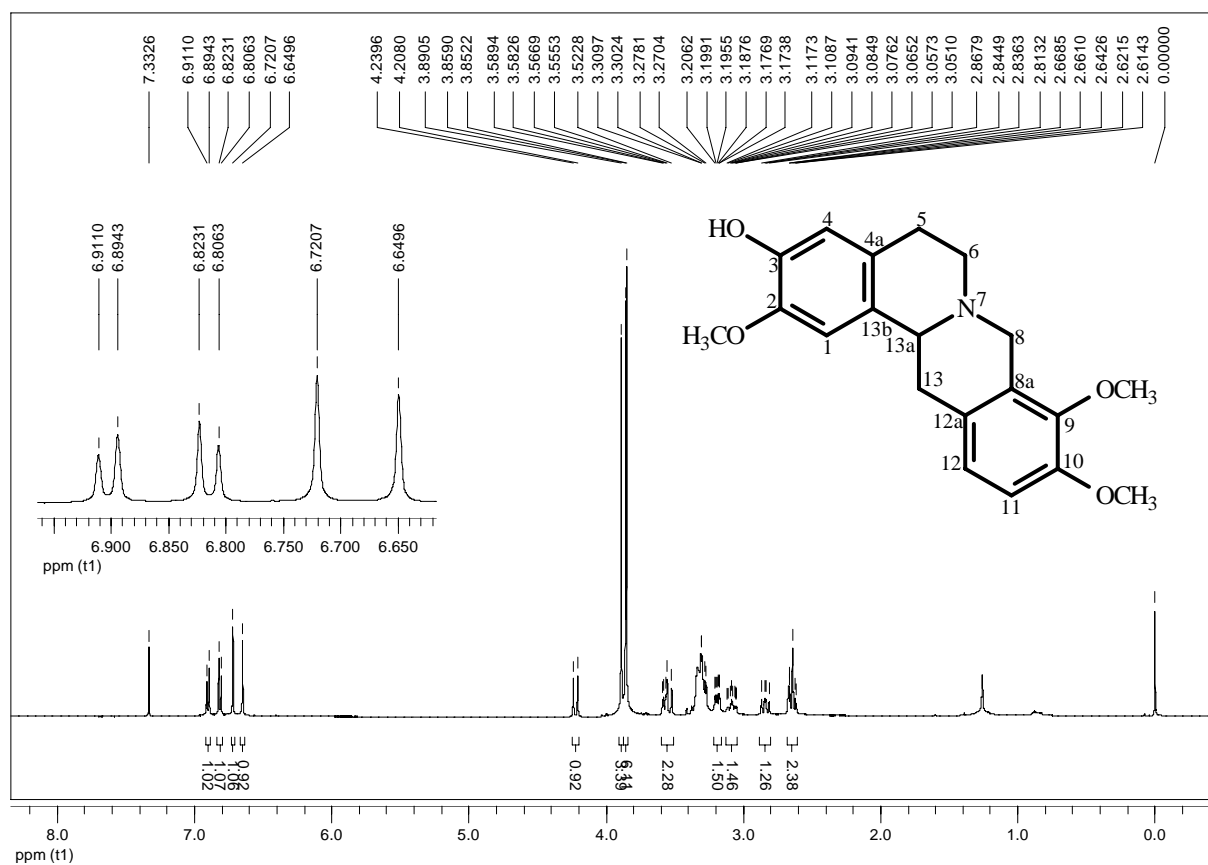
E183. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G49**.



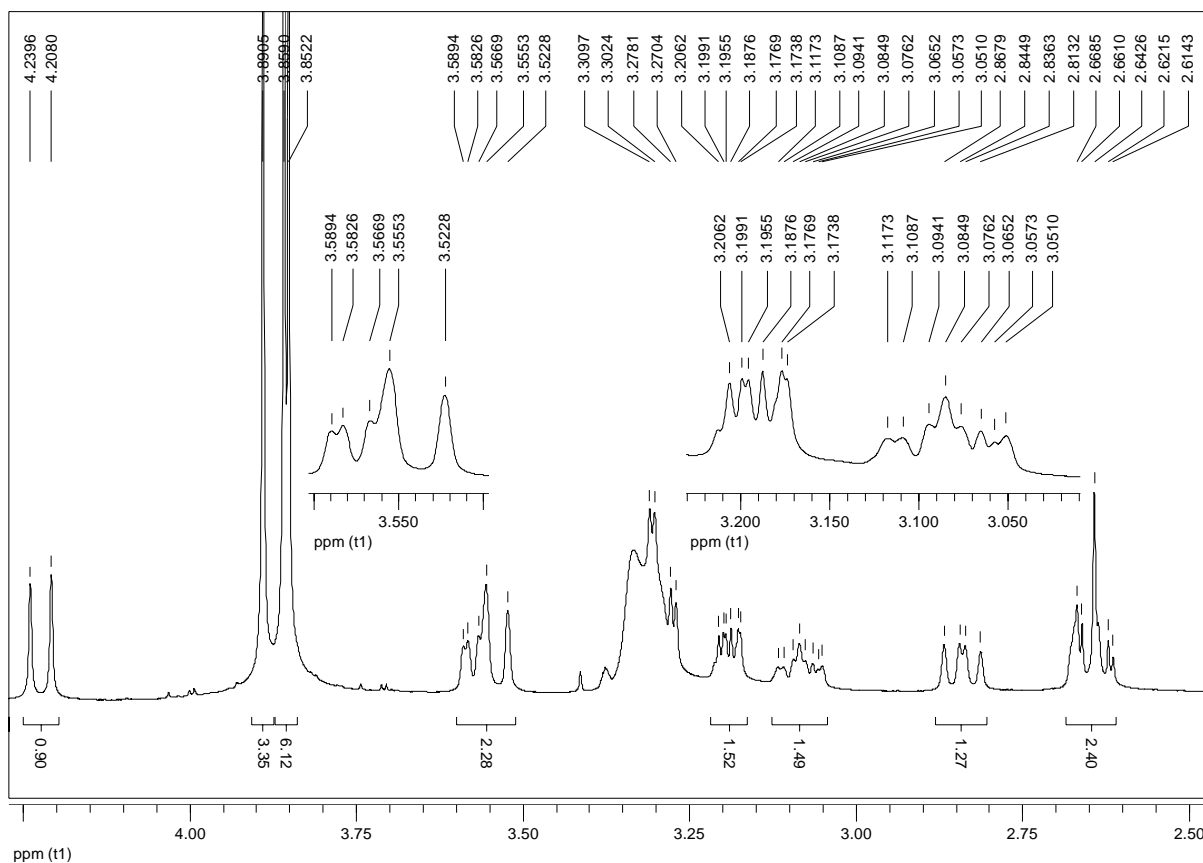
E184. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G49**.



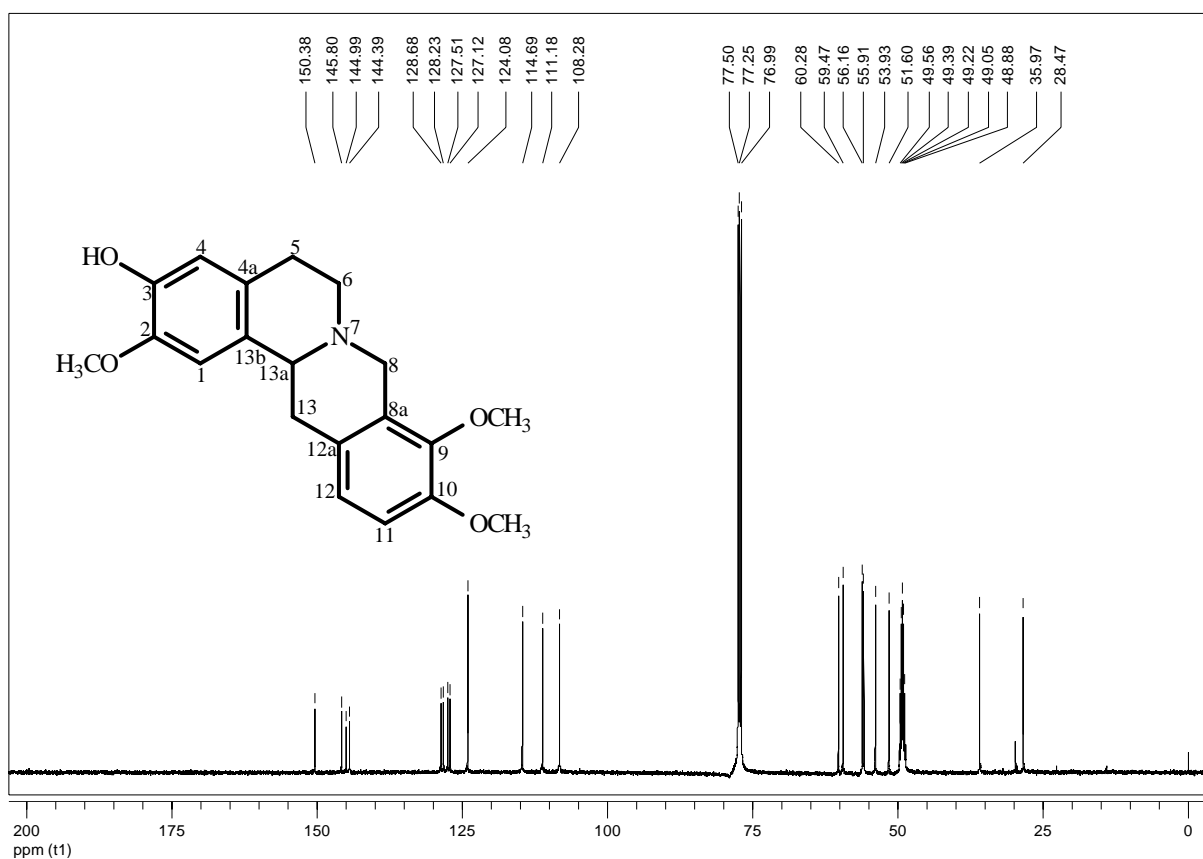
E185. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G35**.



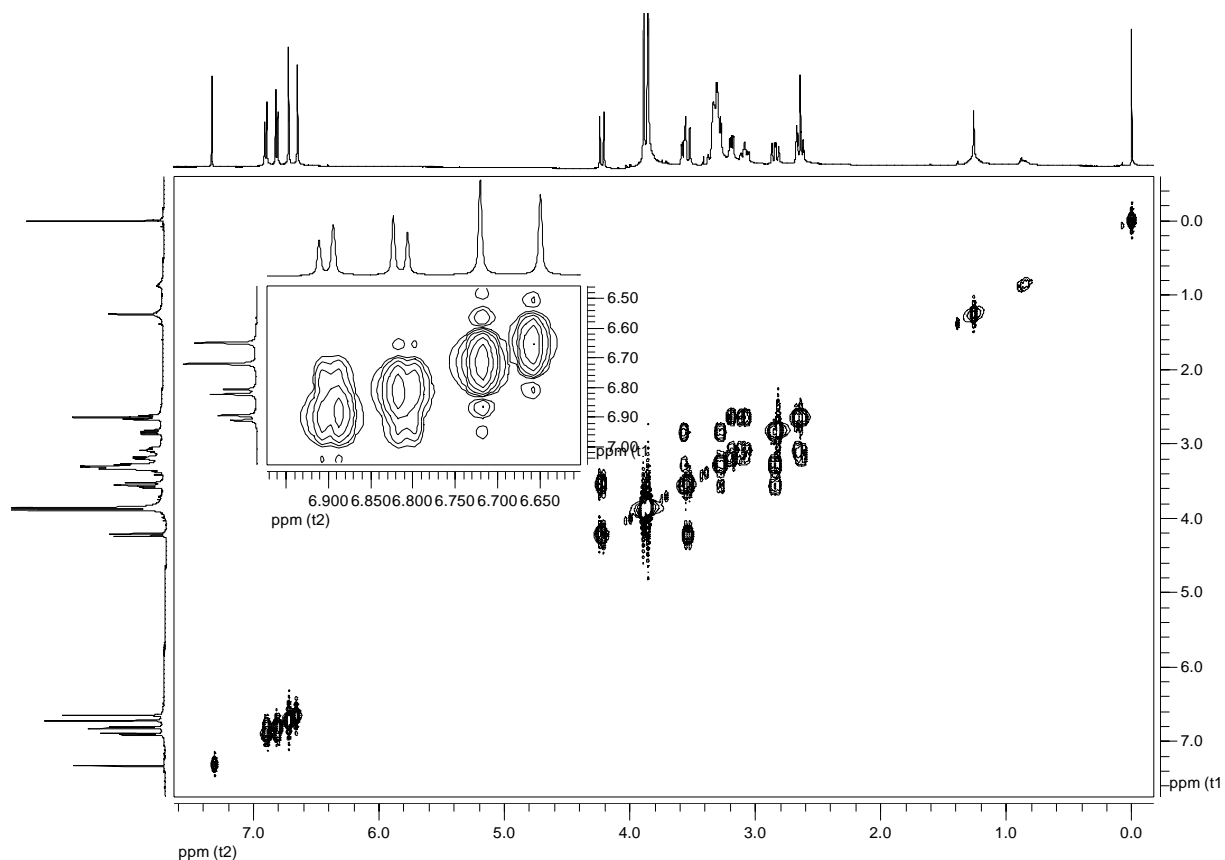
E186. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G35**.



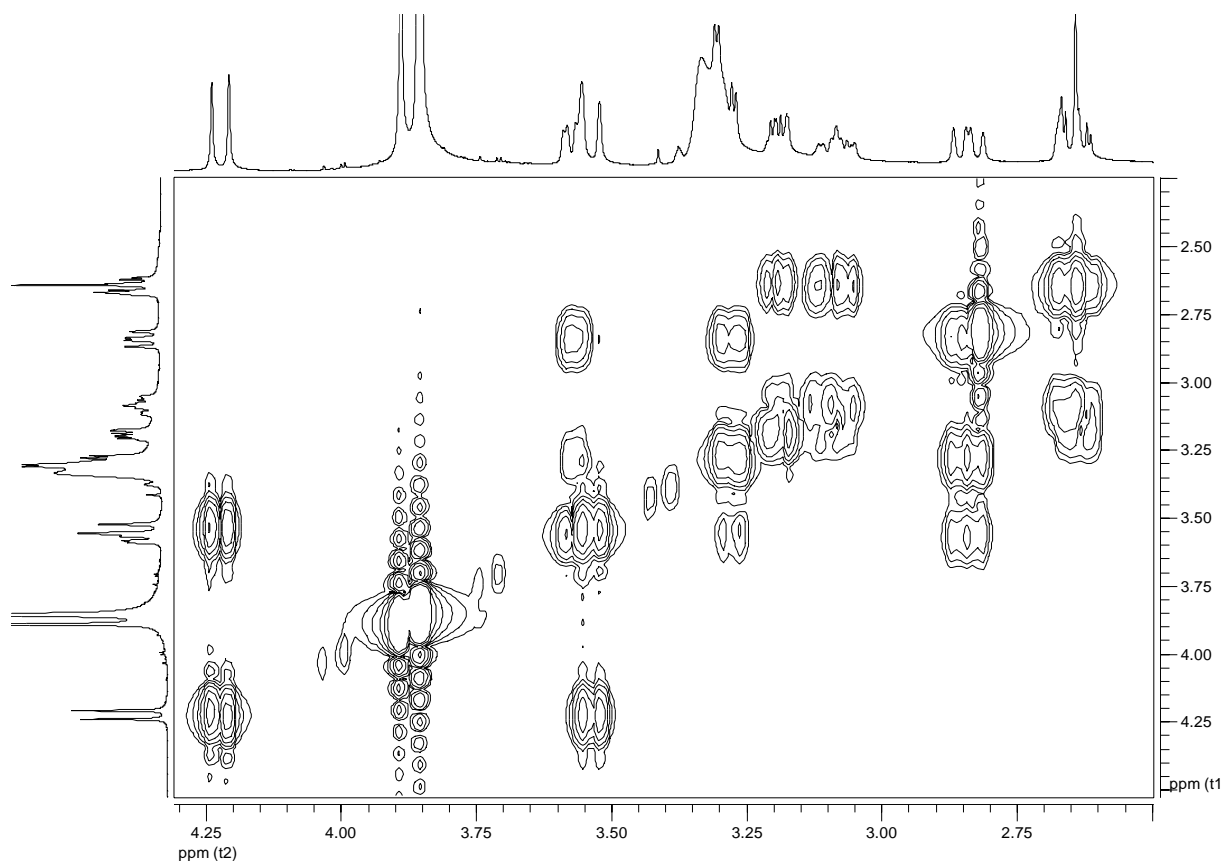
E187. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



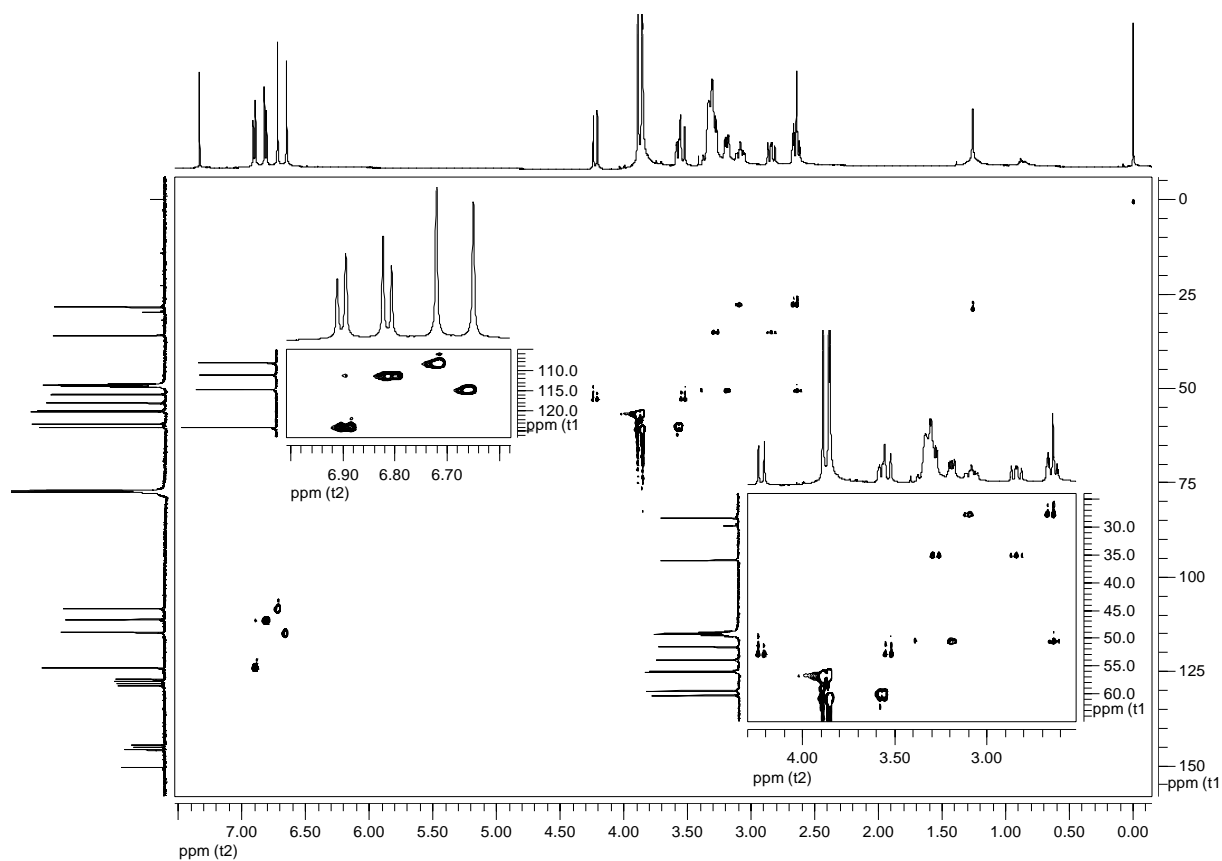
E188. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



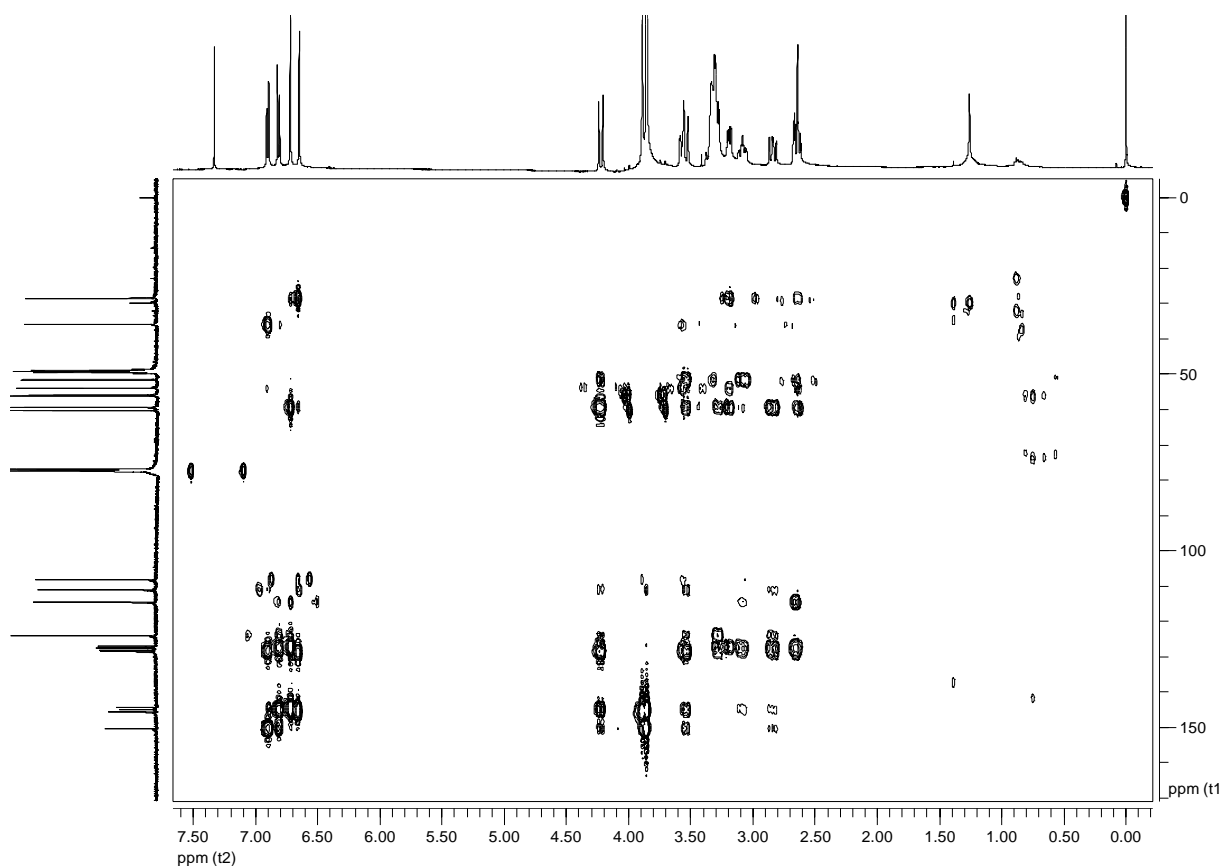
E189. Mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



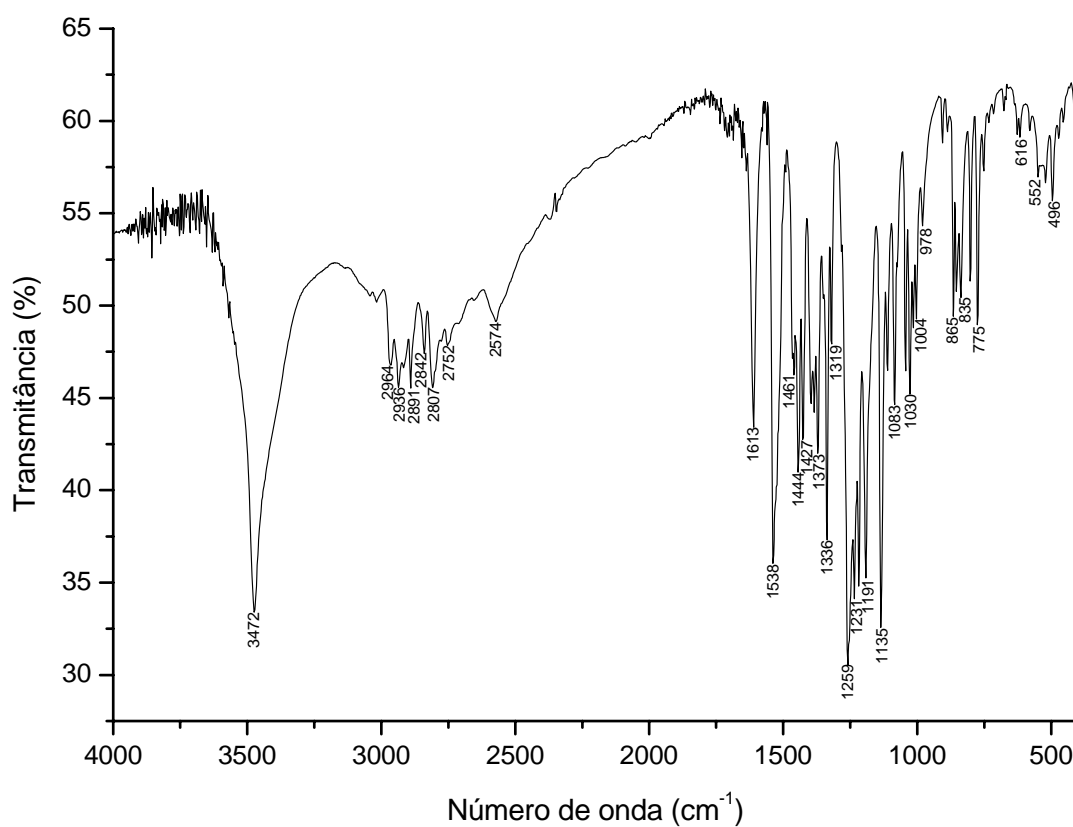
E190. Ampliação da região alifática do mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



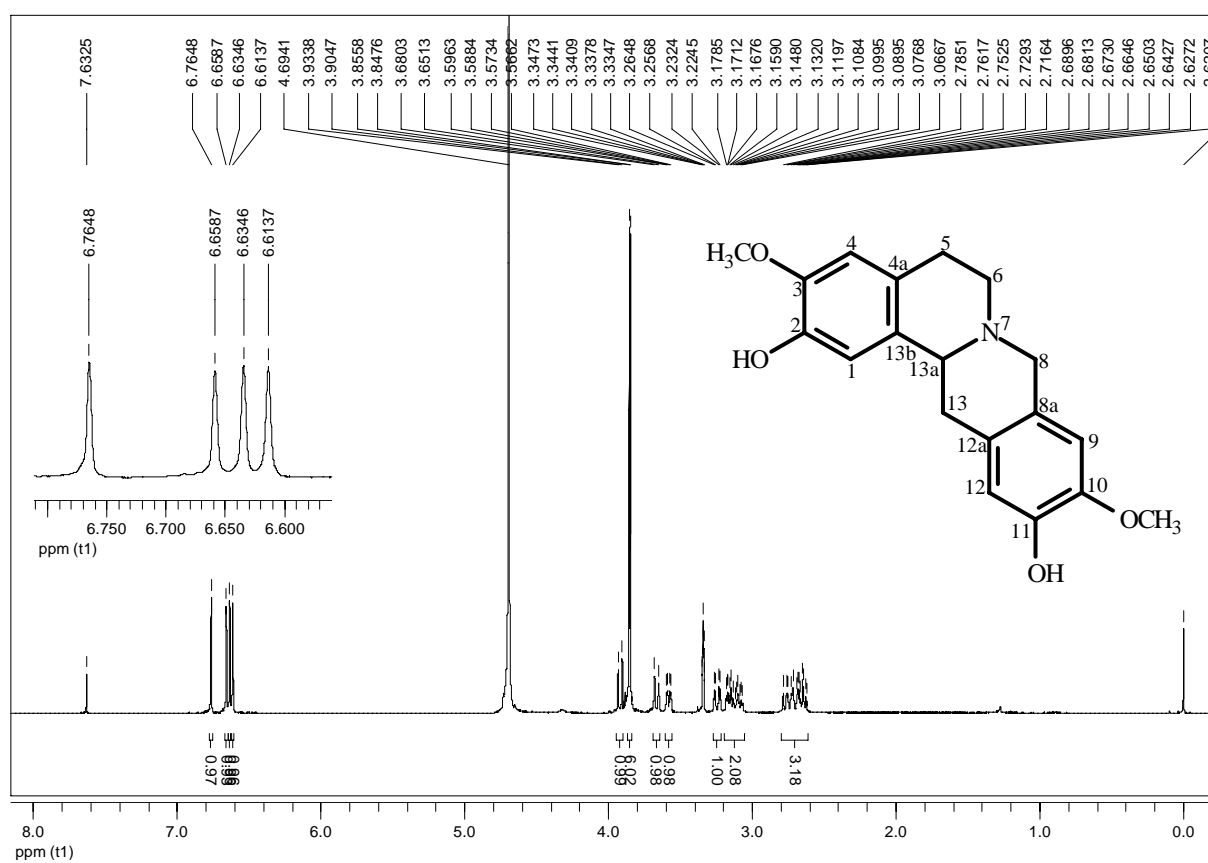
E191. Mapa de contorno gHSQC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



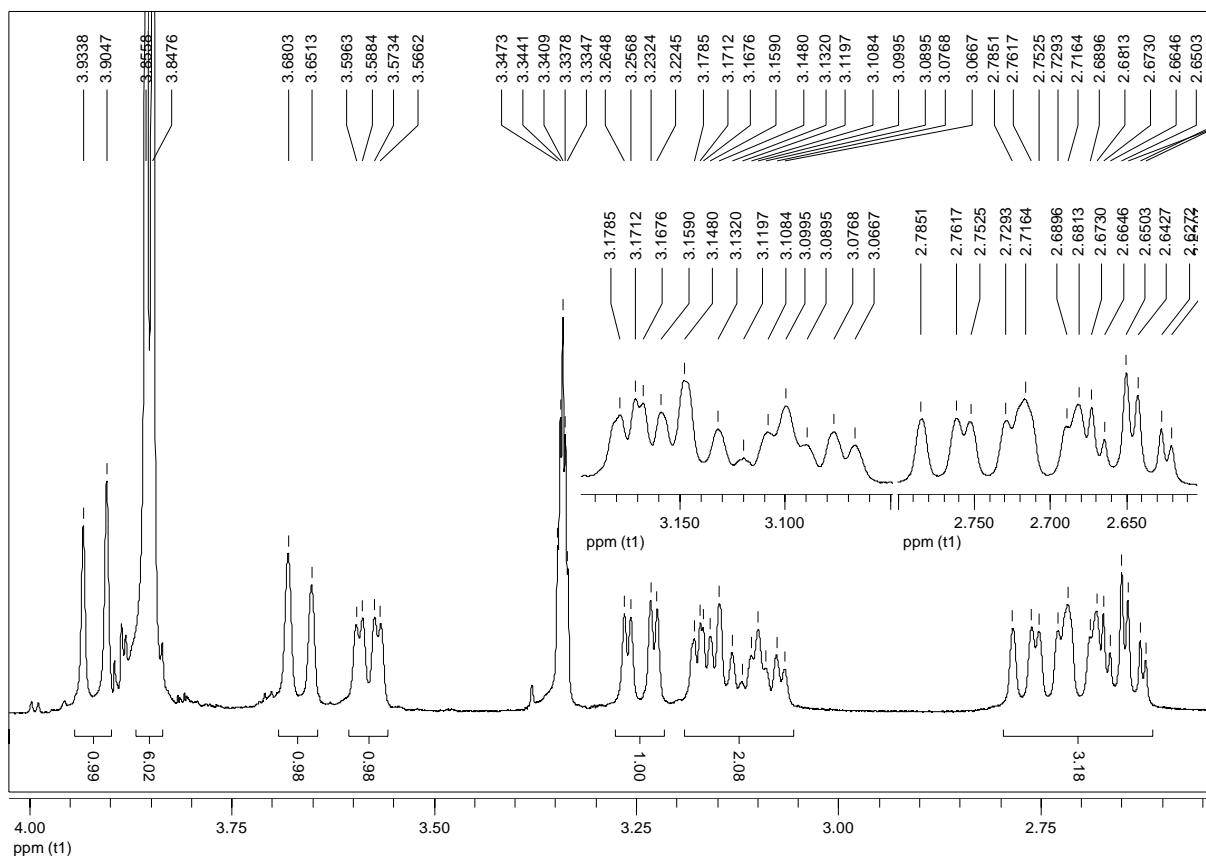
E192. Mapa de contorno gHMBC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G35**.



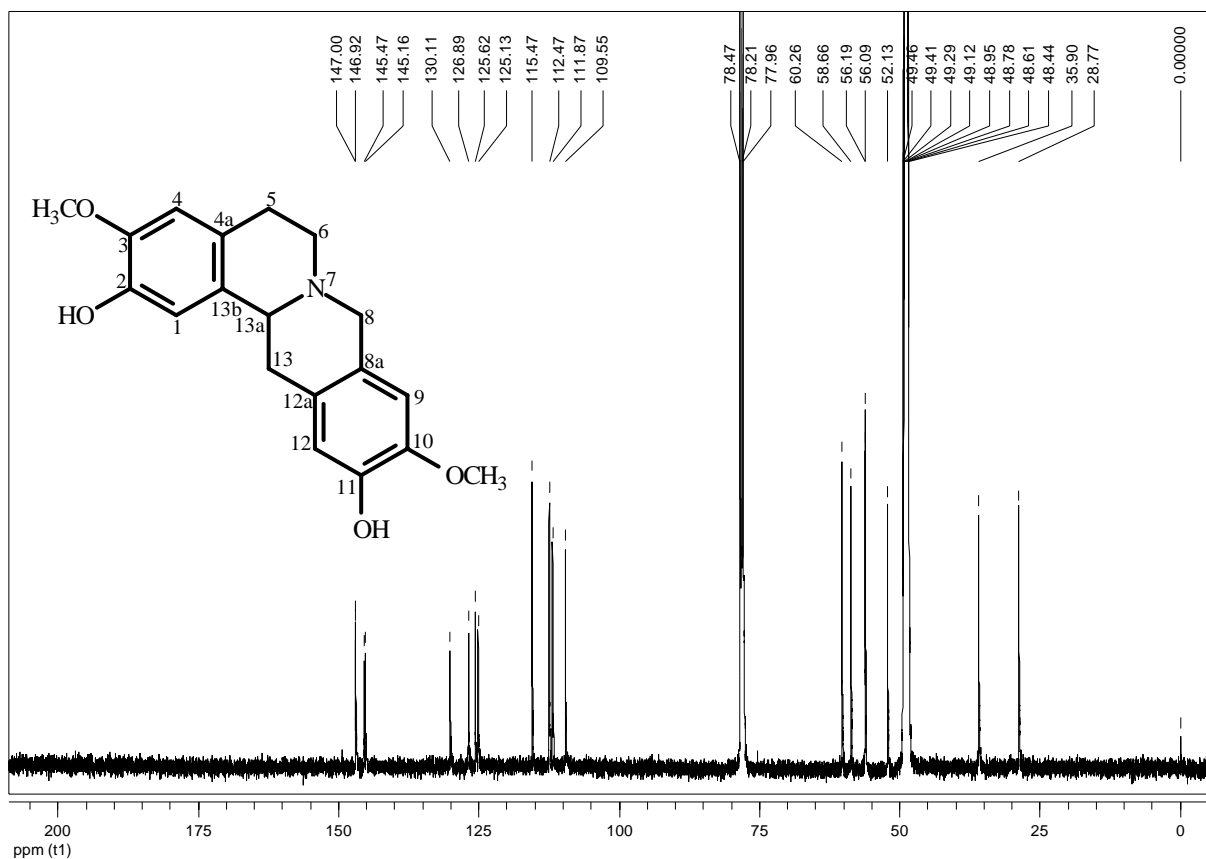
E193. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G36**.



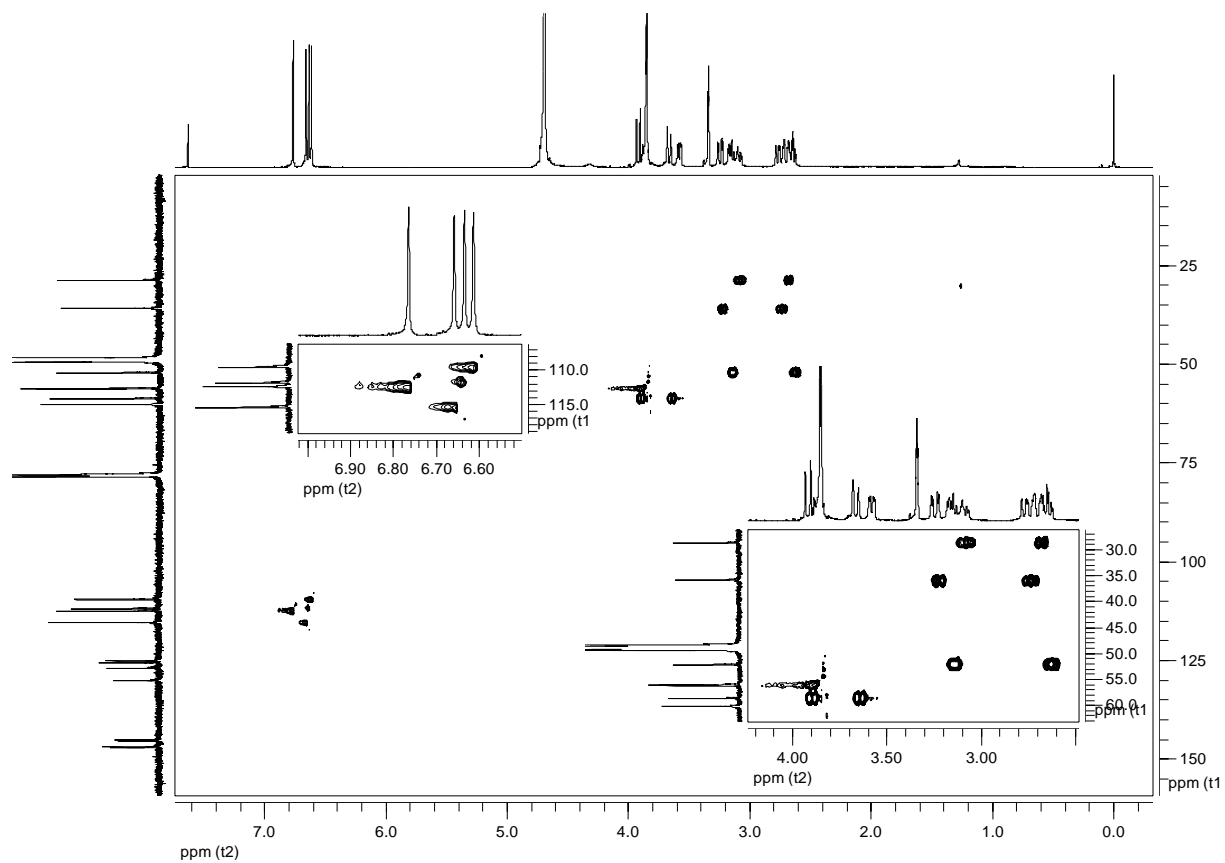
E194. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G36**.



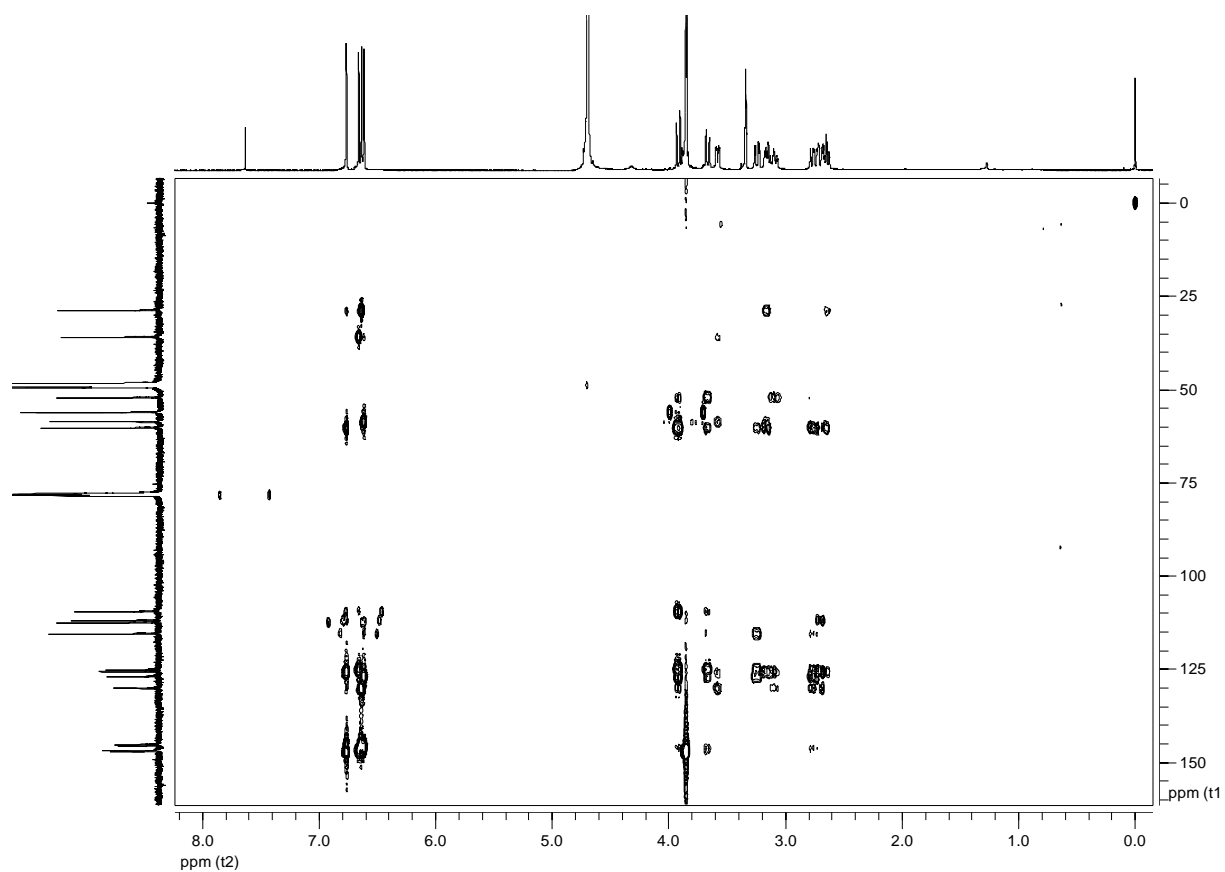
E195. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G36**.



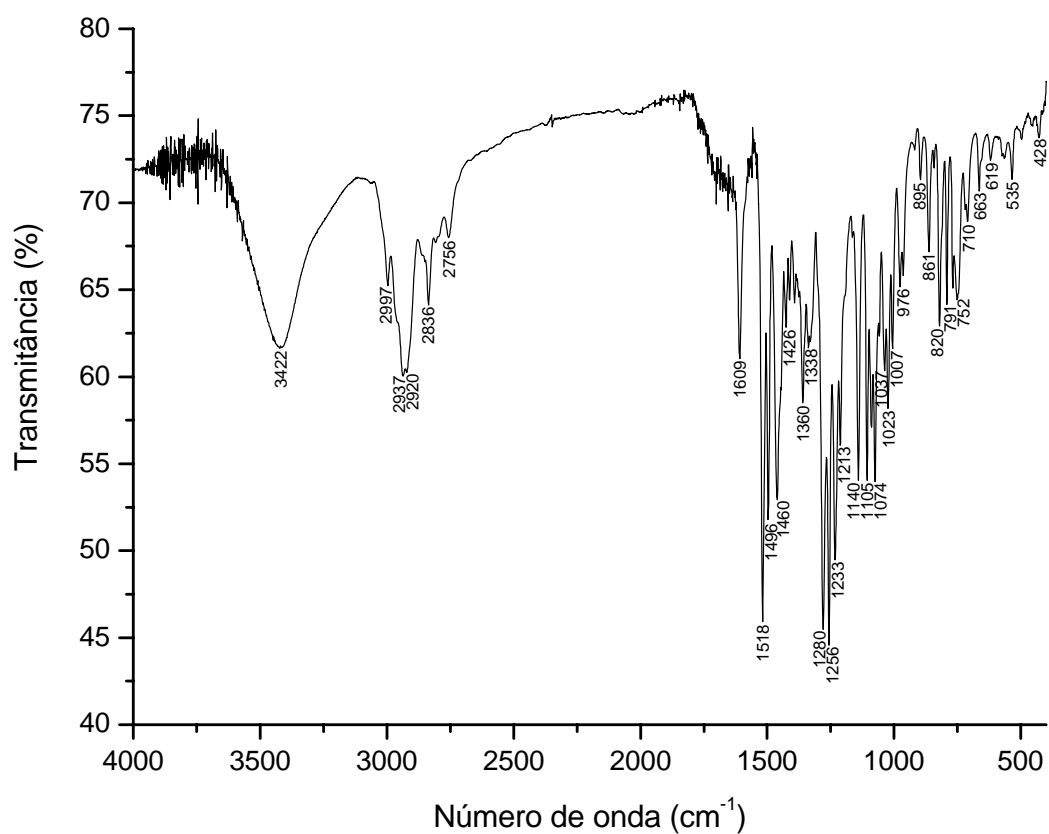
E196. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) de **G36**.



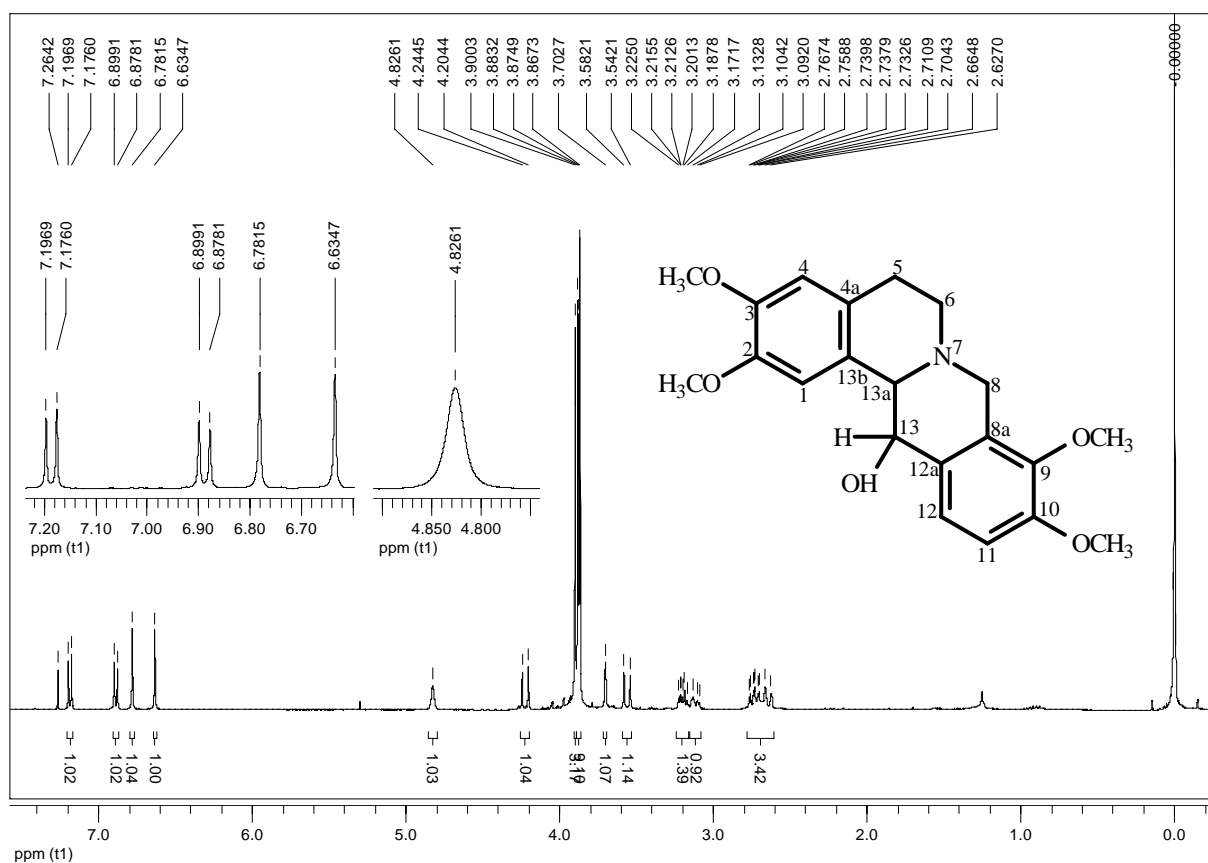
E197. Mapa de contorno gHSQC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G36**.



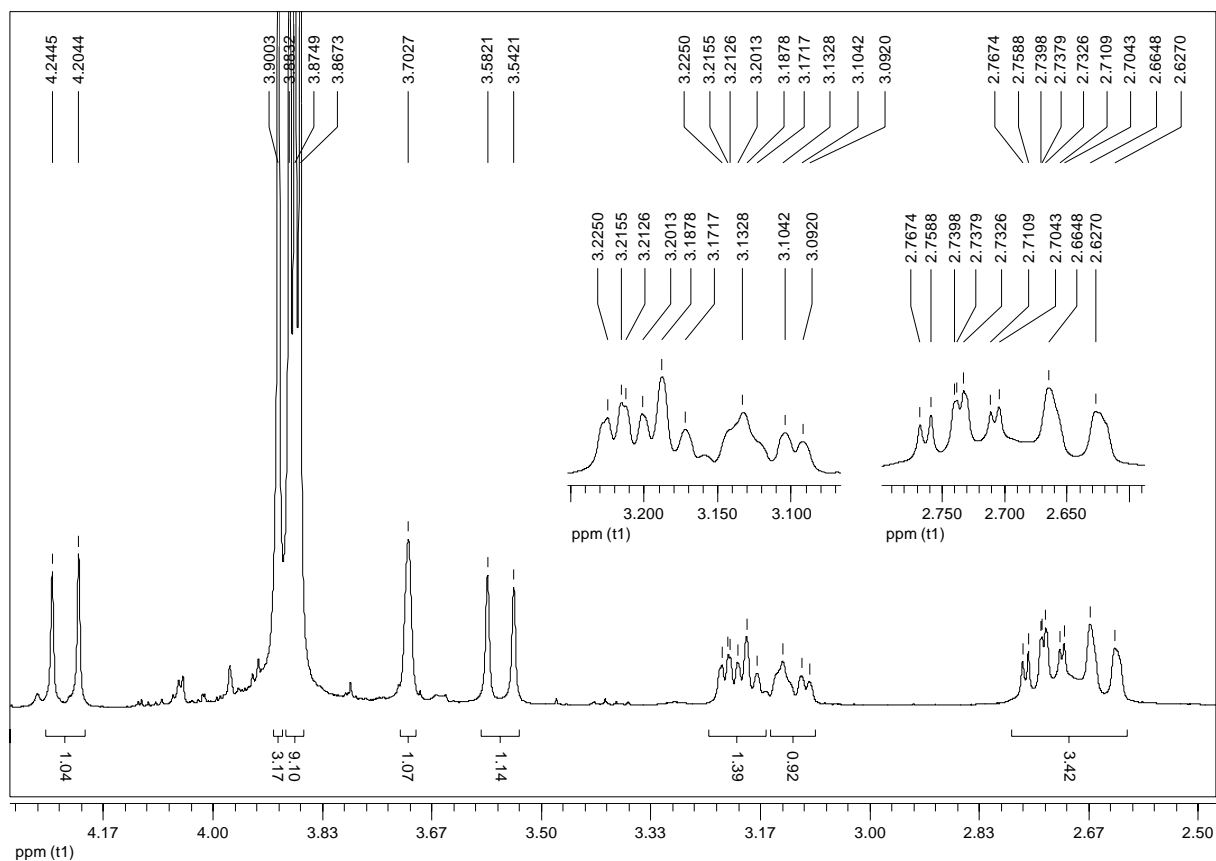
E198. Mapa de contorno gHMBC (H 500 MHz, C 125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G36**.



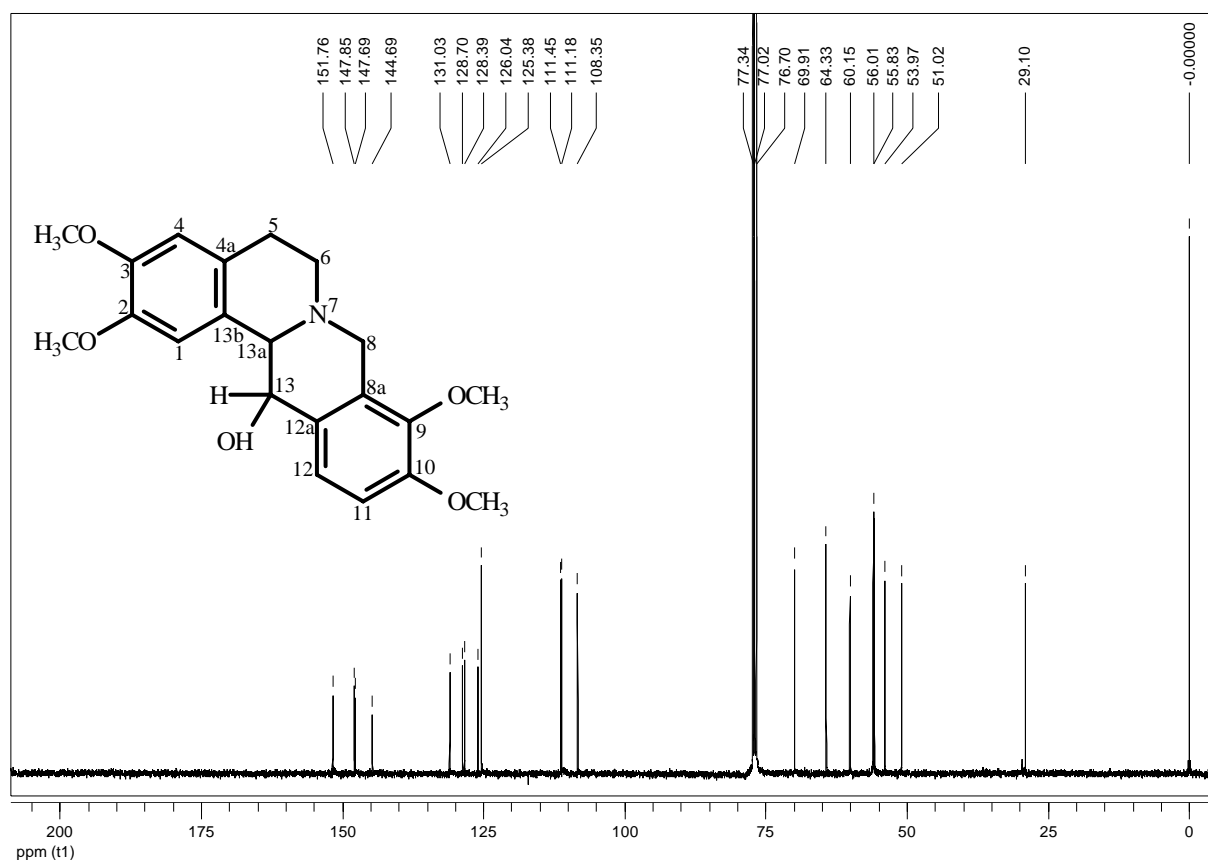
E199. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G37**.



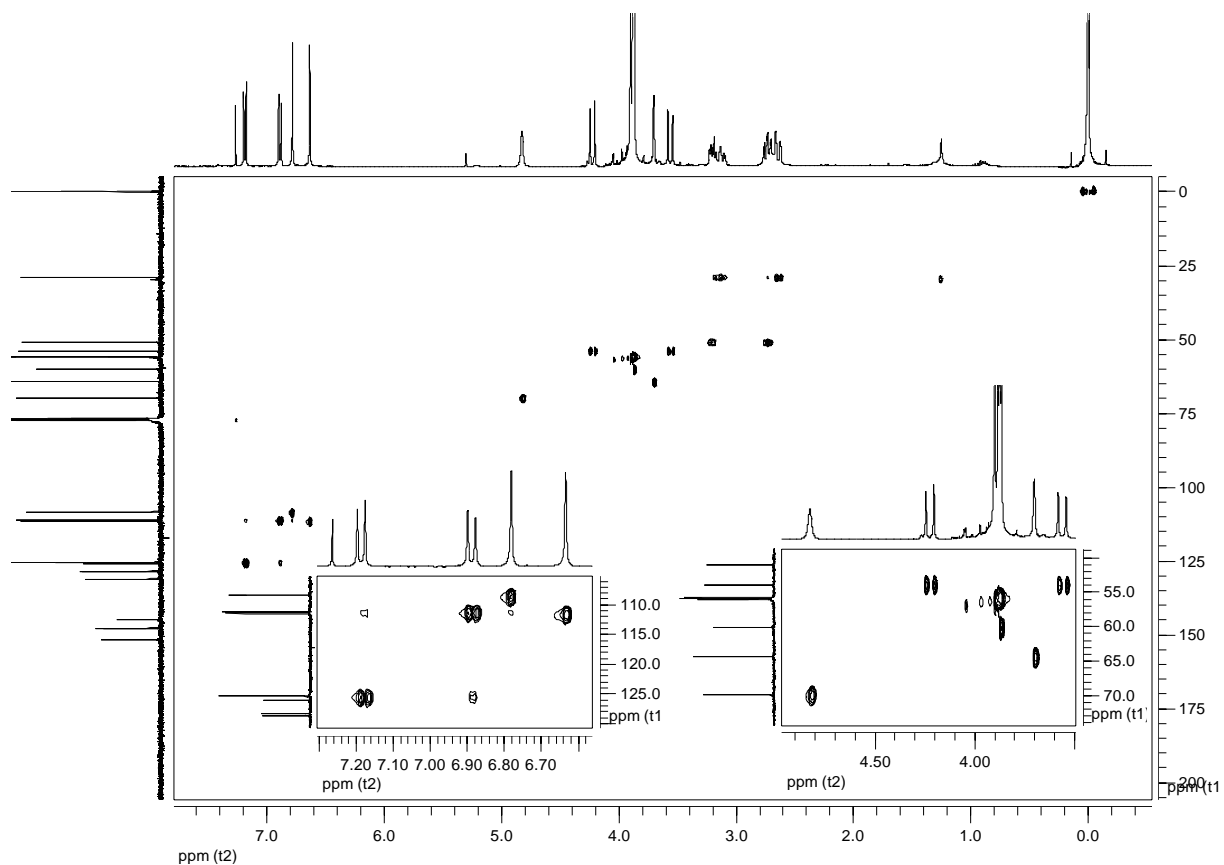
E200. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G37**.



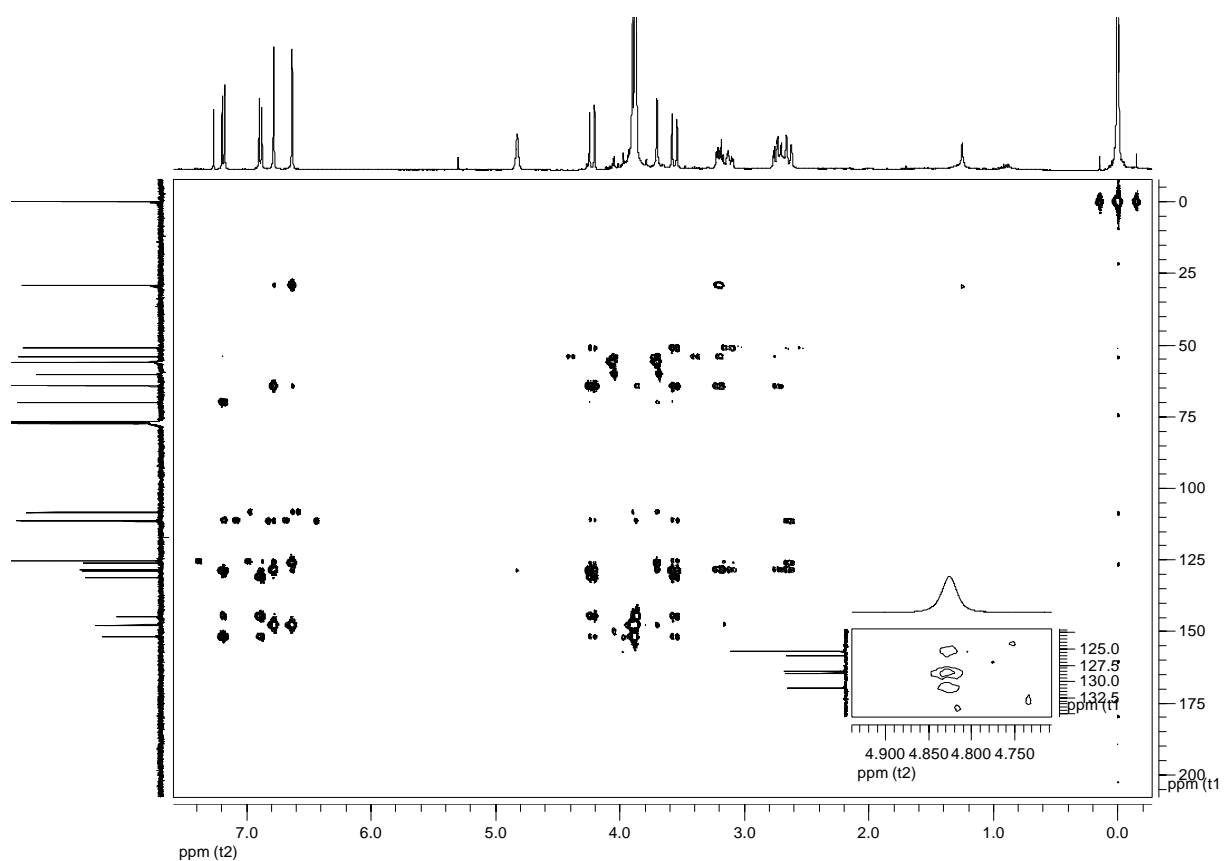
E201. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G37**.



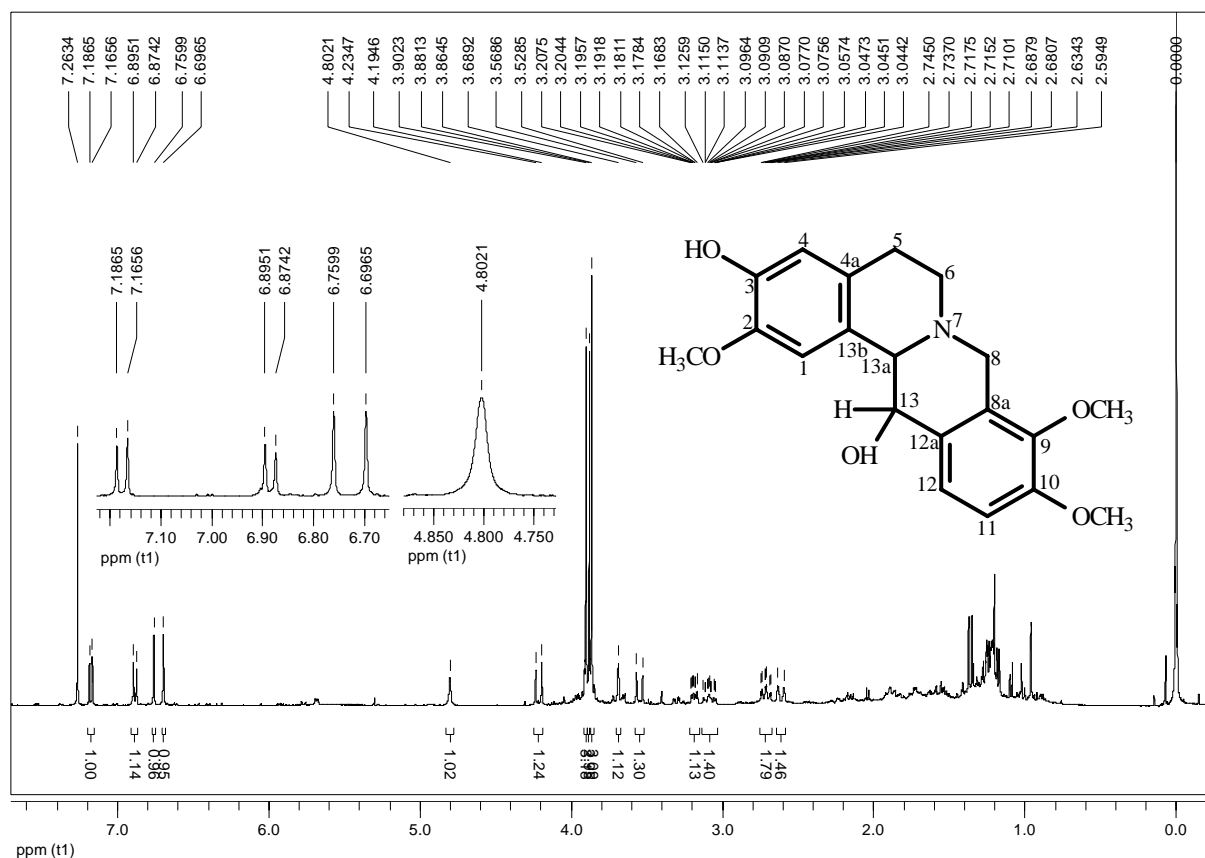
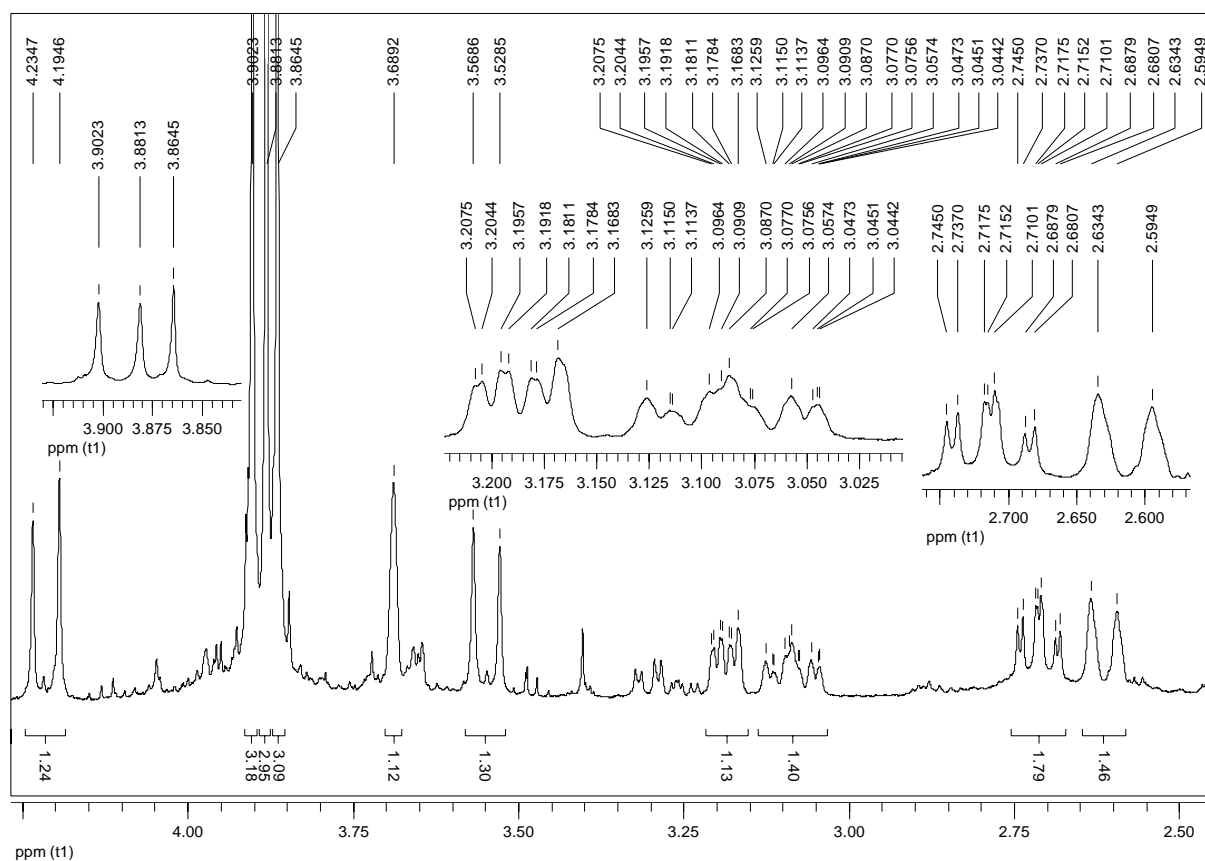
E202. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de **G37**.

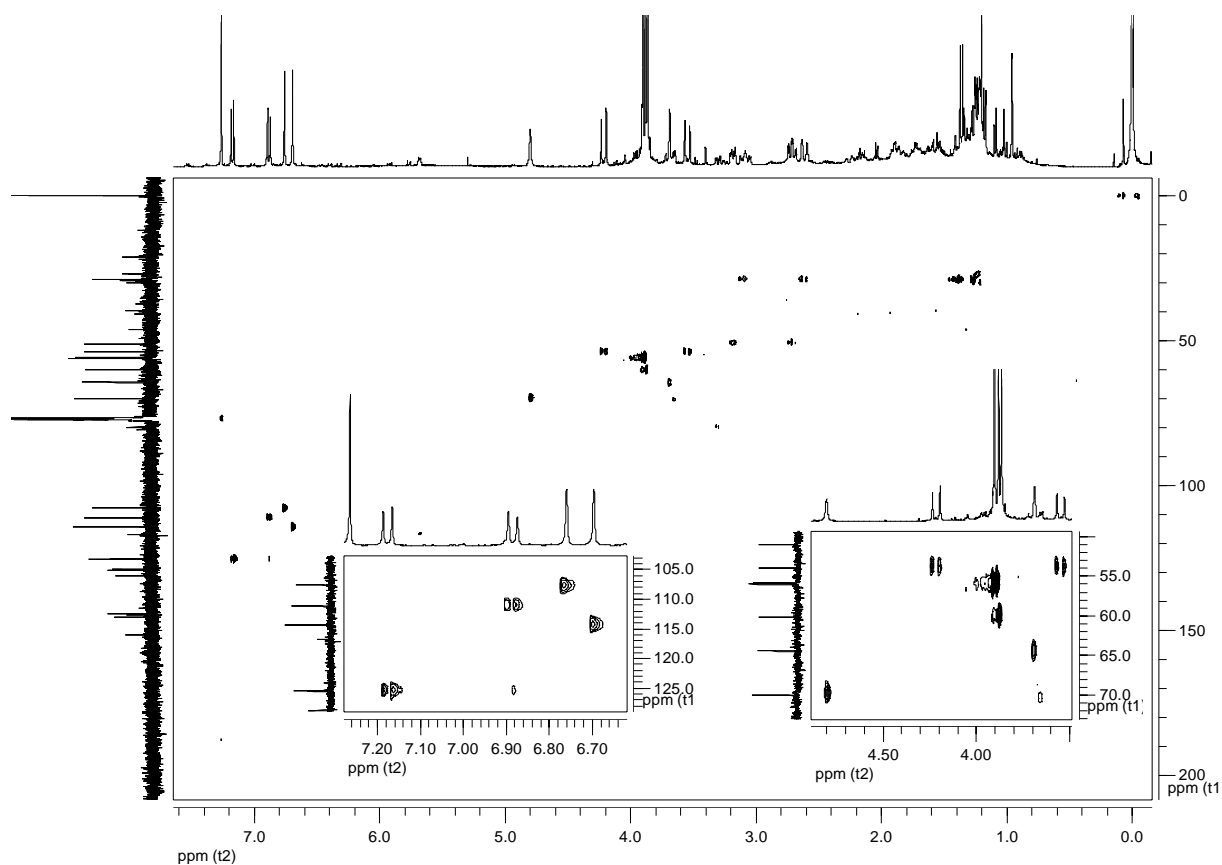
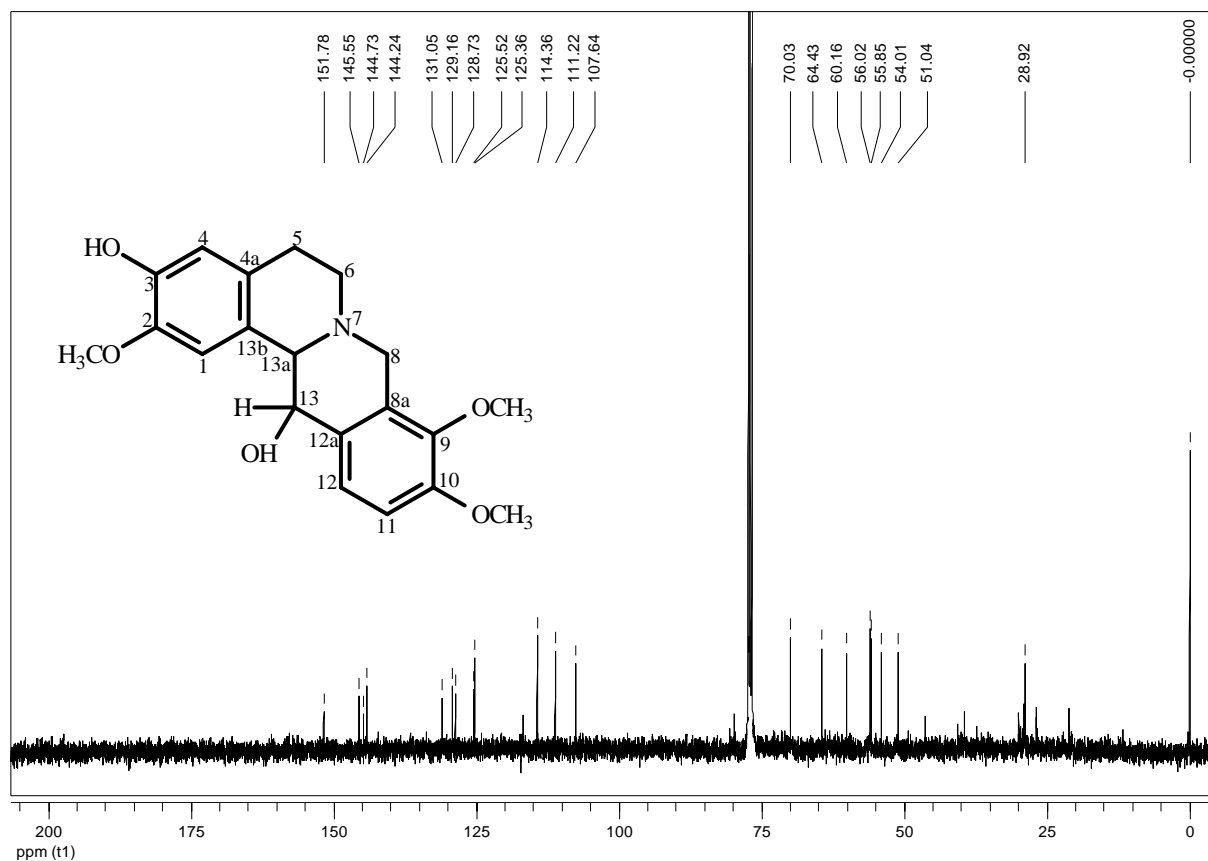


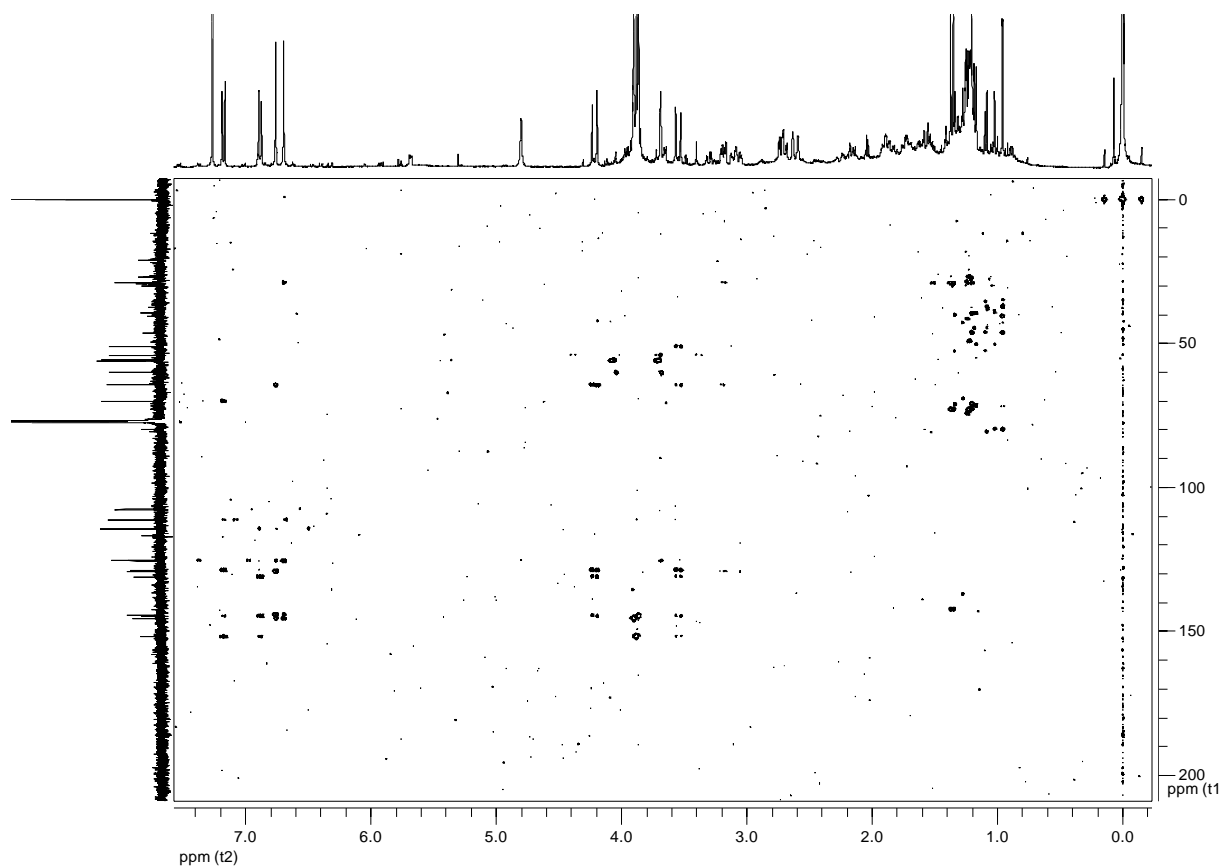
E203. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G37**.



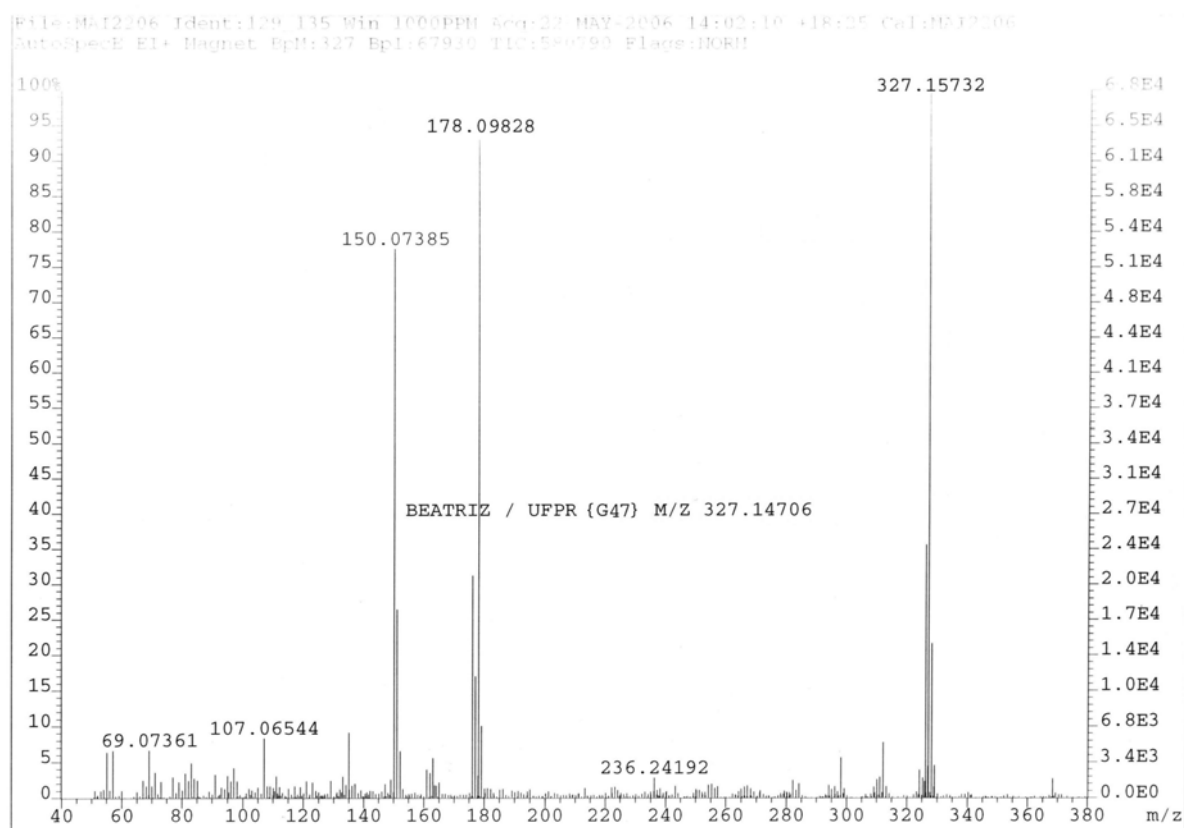
E204. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃) de **G37**.

E205. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G42.E206. Ampliação da região alifática do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G42.

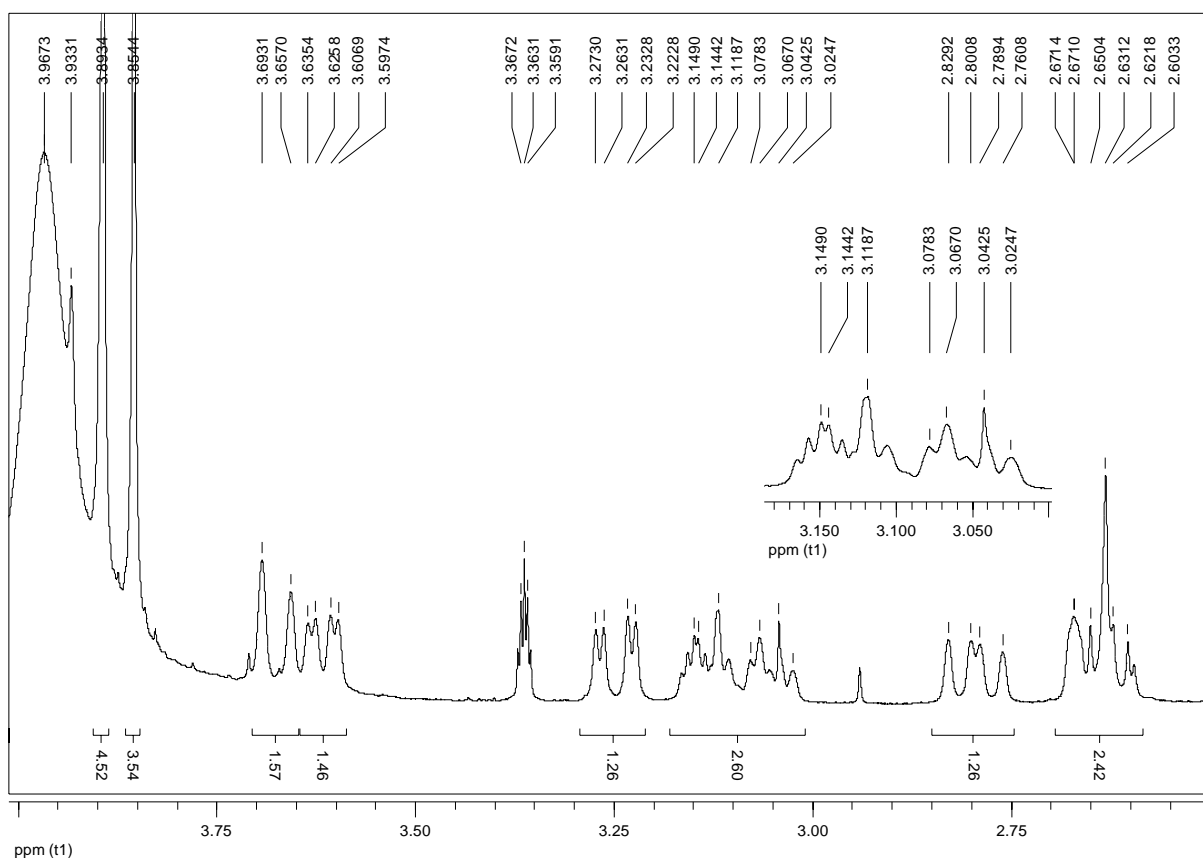
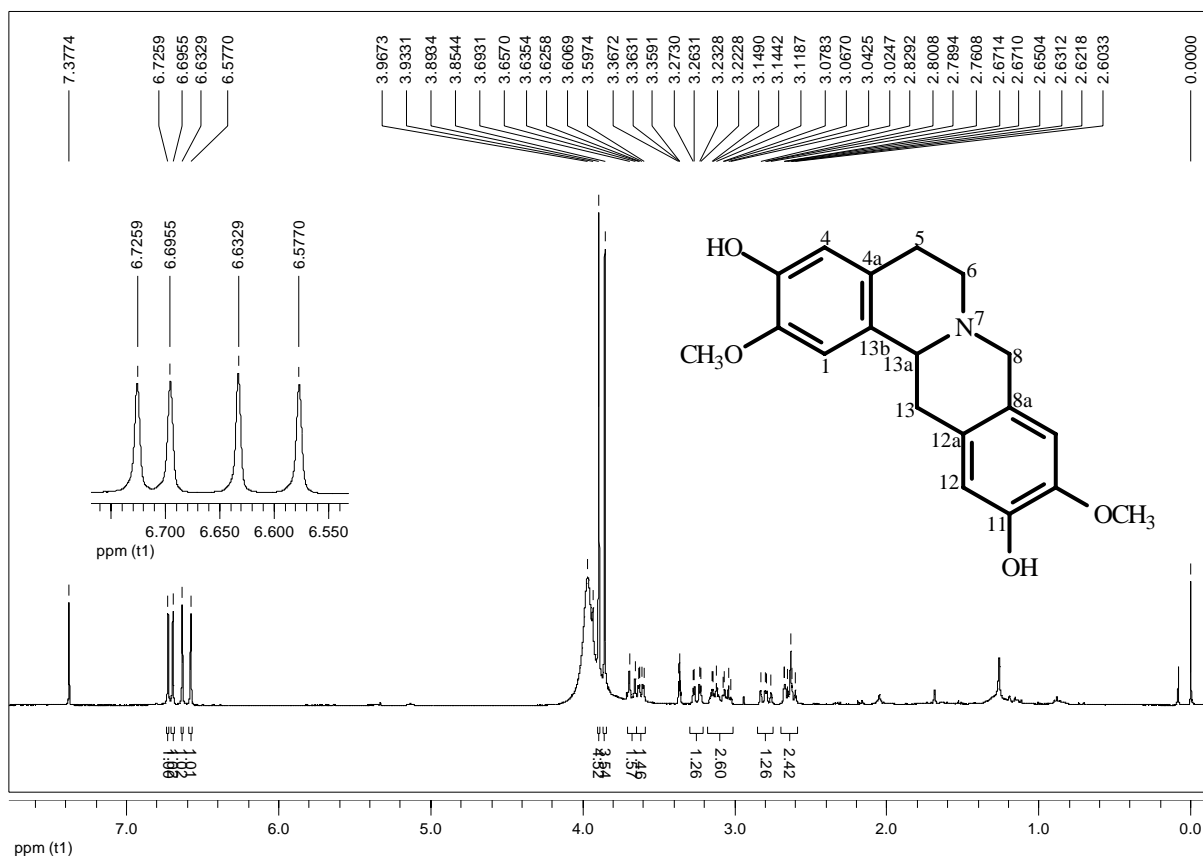


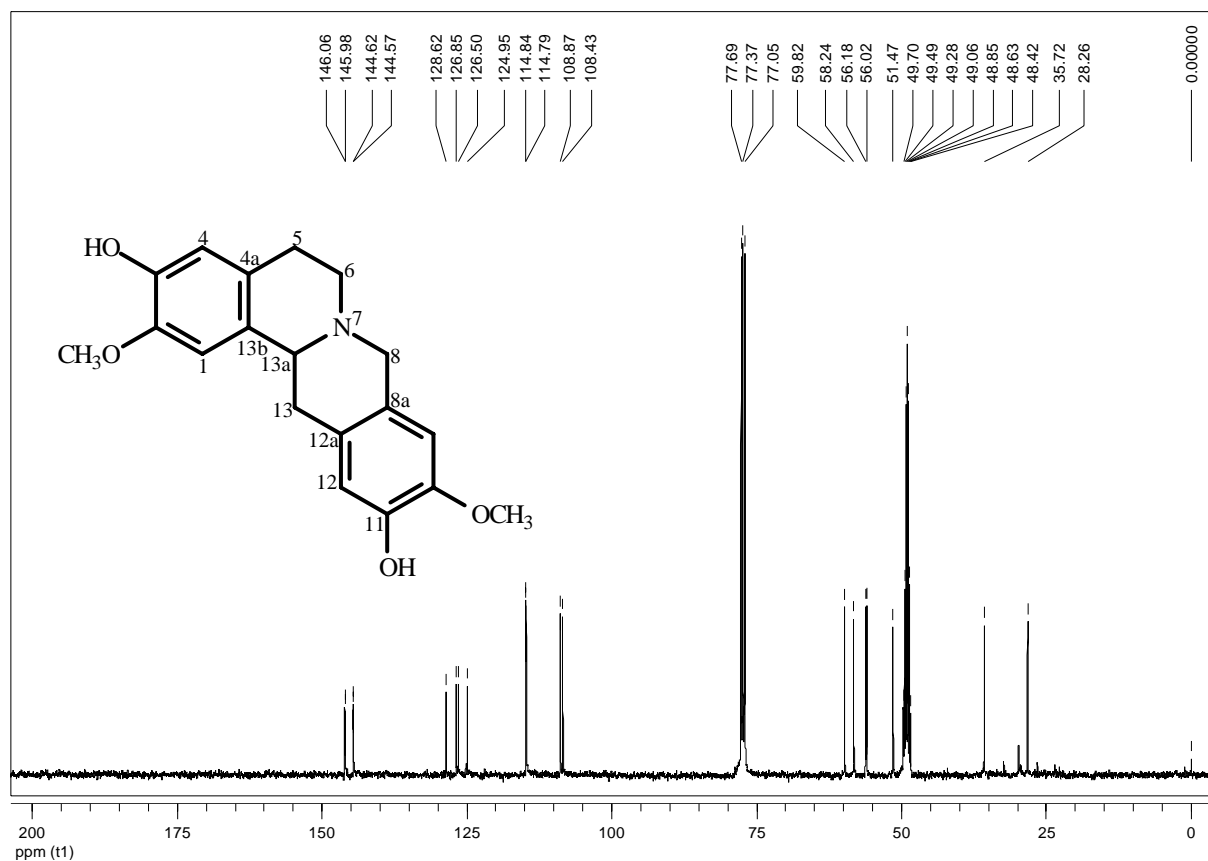


E209. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G42**.

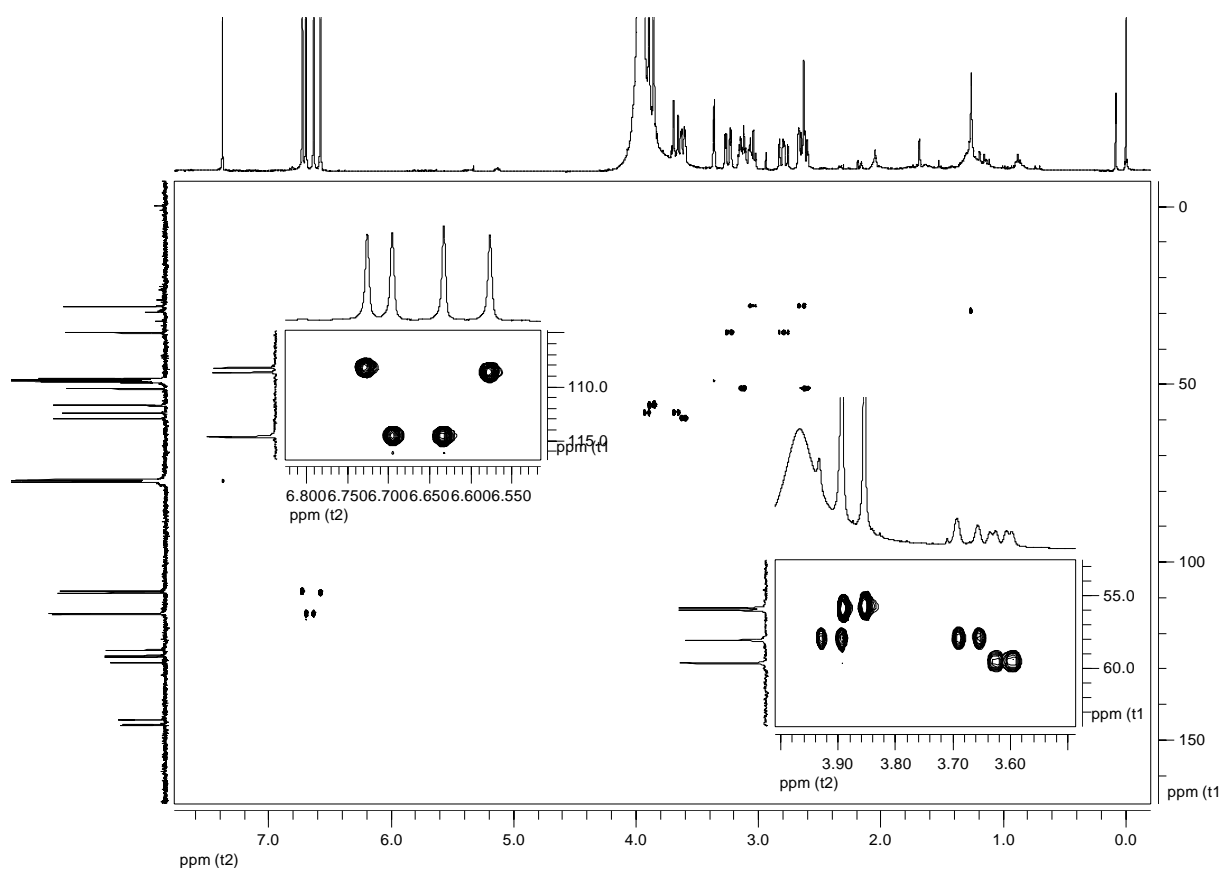


E210. Espectro de massas de alta resolução de **G47** (HREIMS).

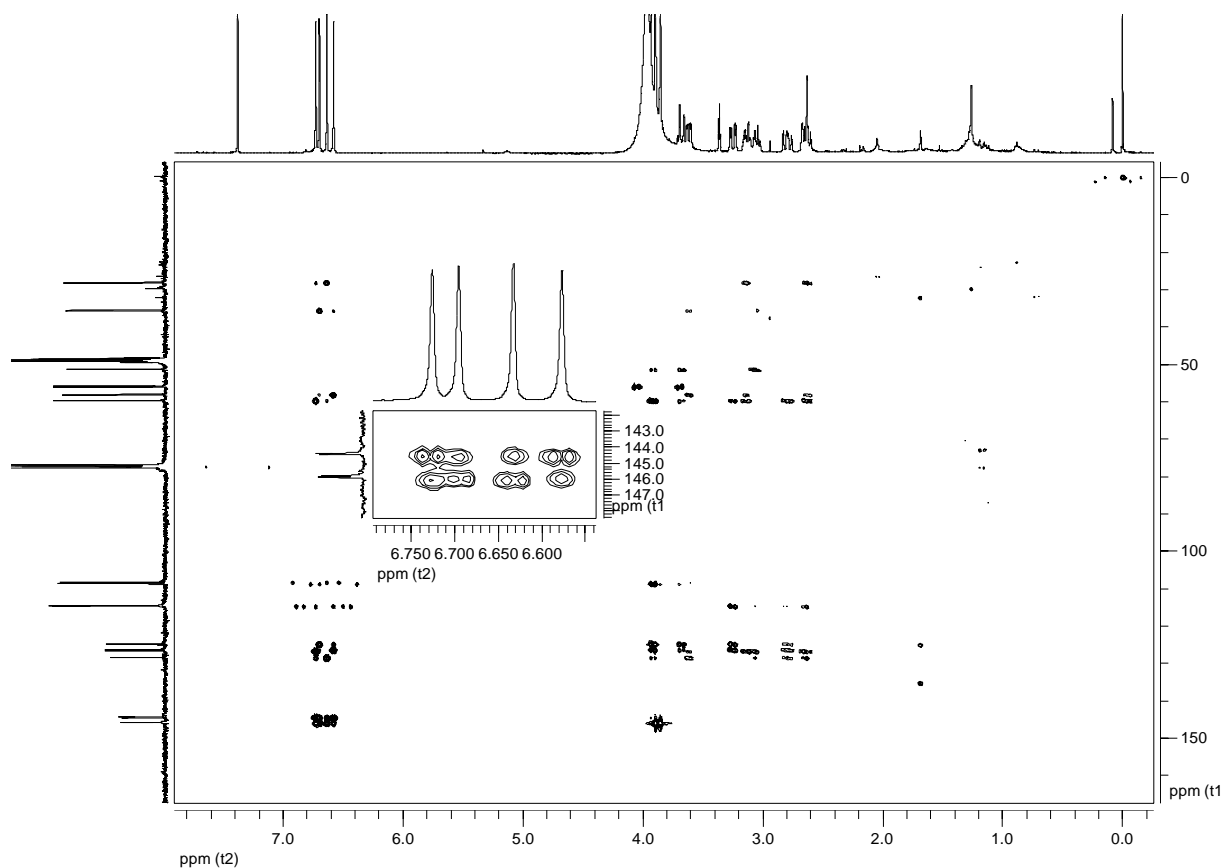




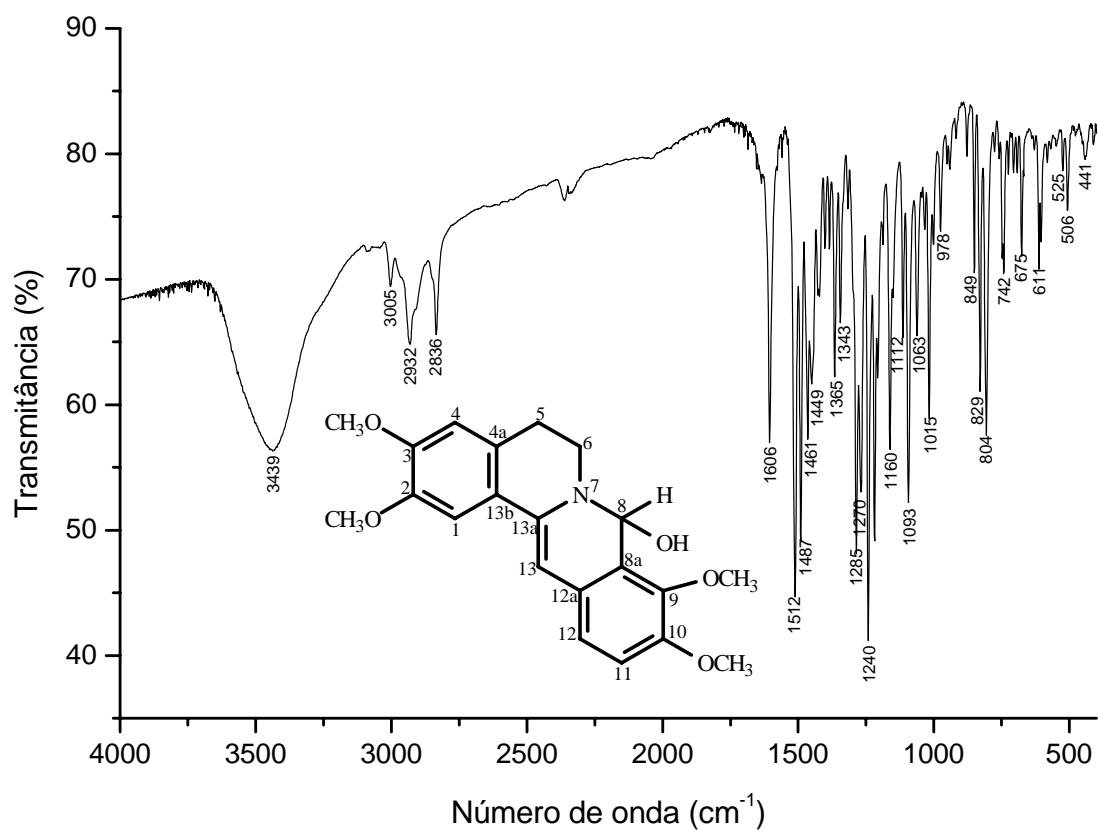
E213. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G47.



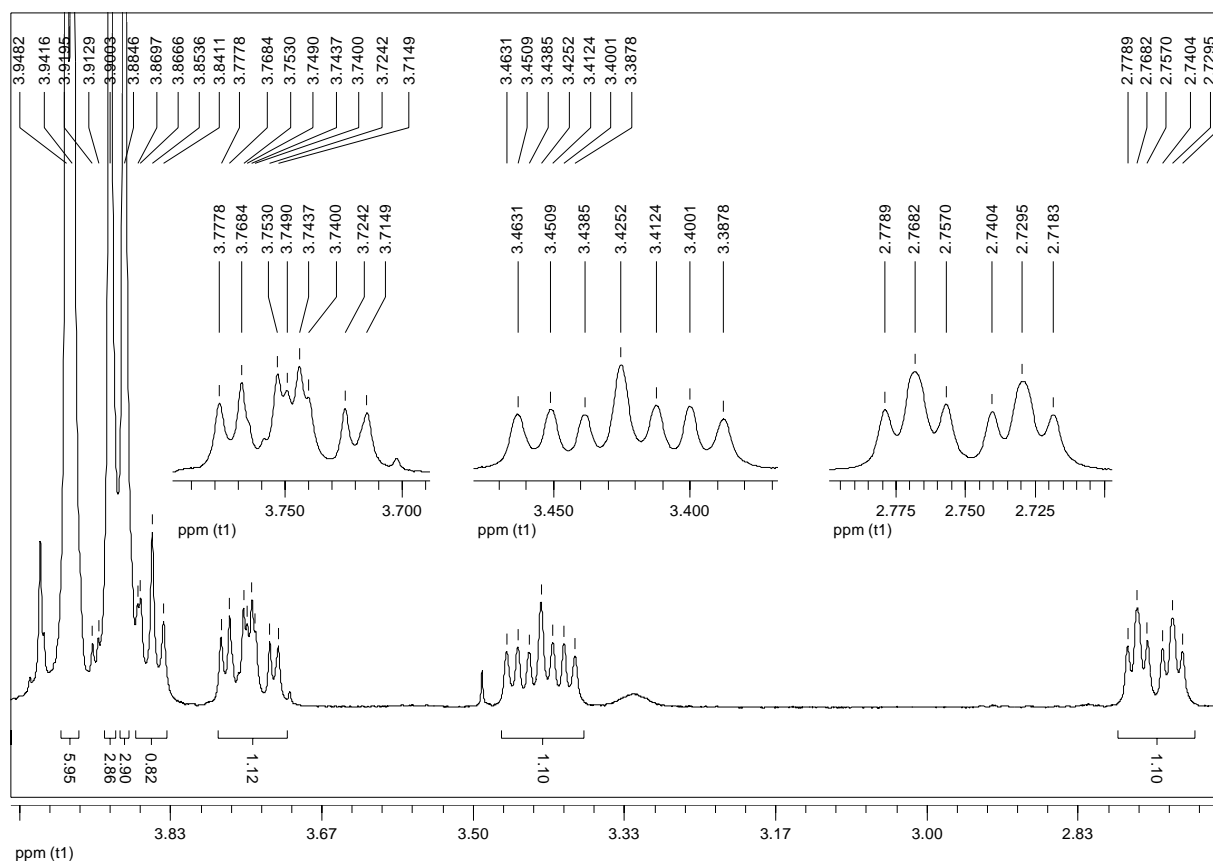
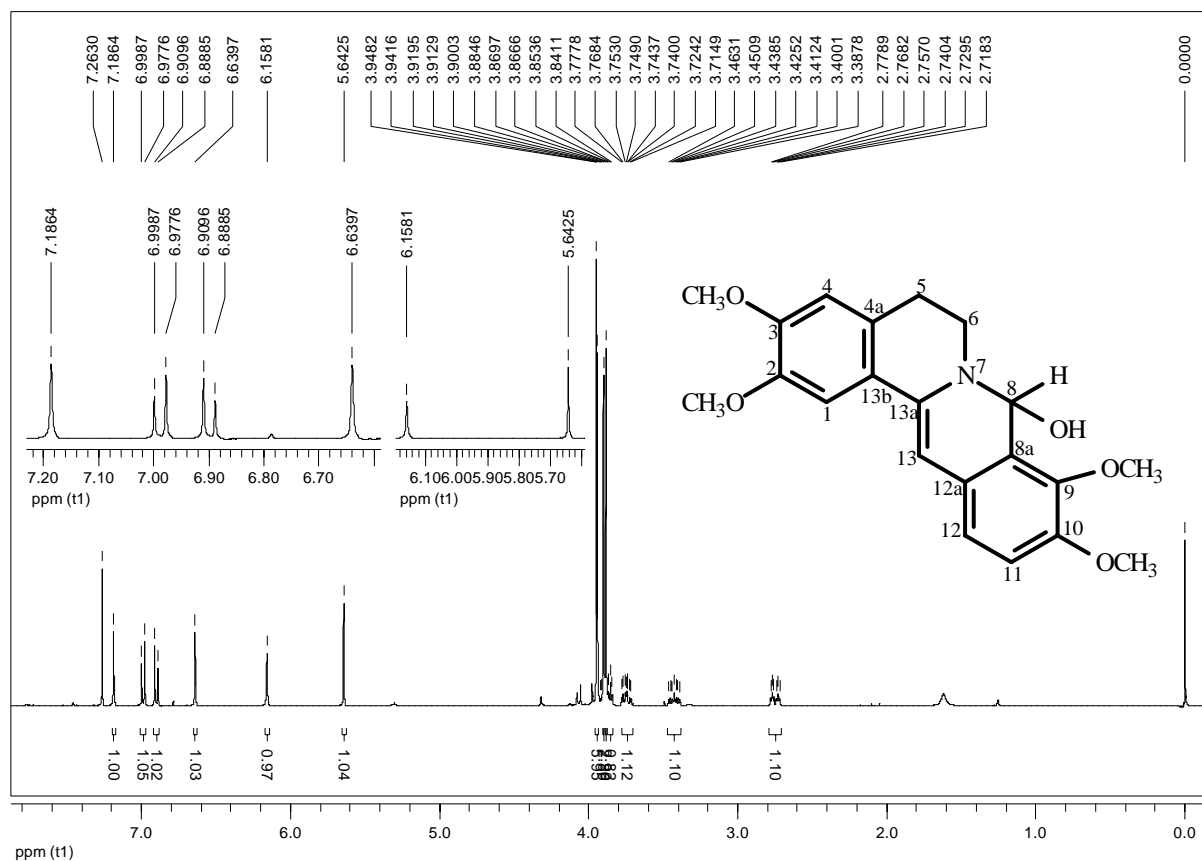
E214. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de G47.

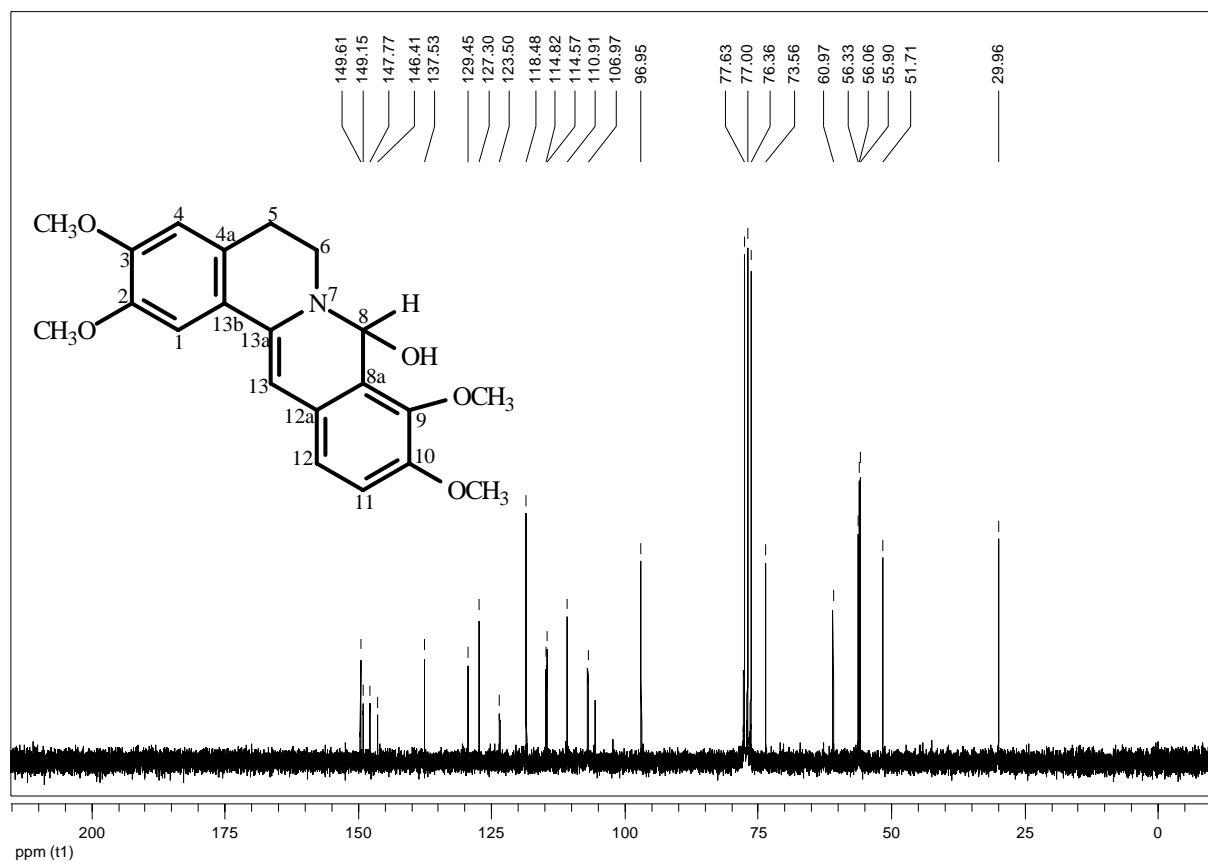


E215. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **G47**.

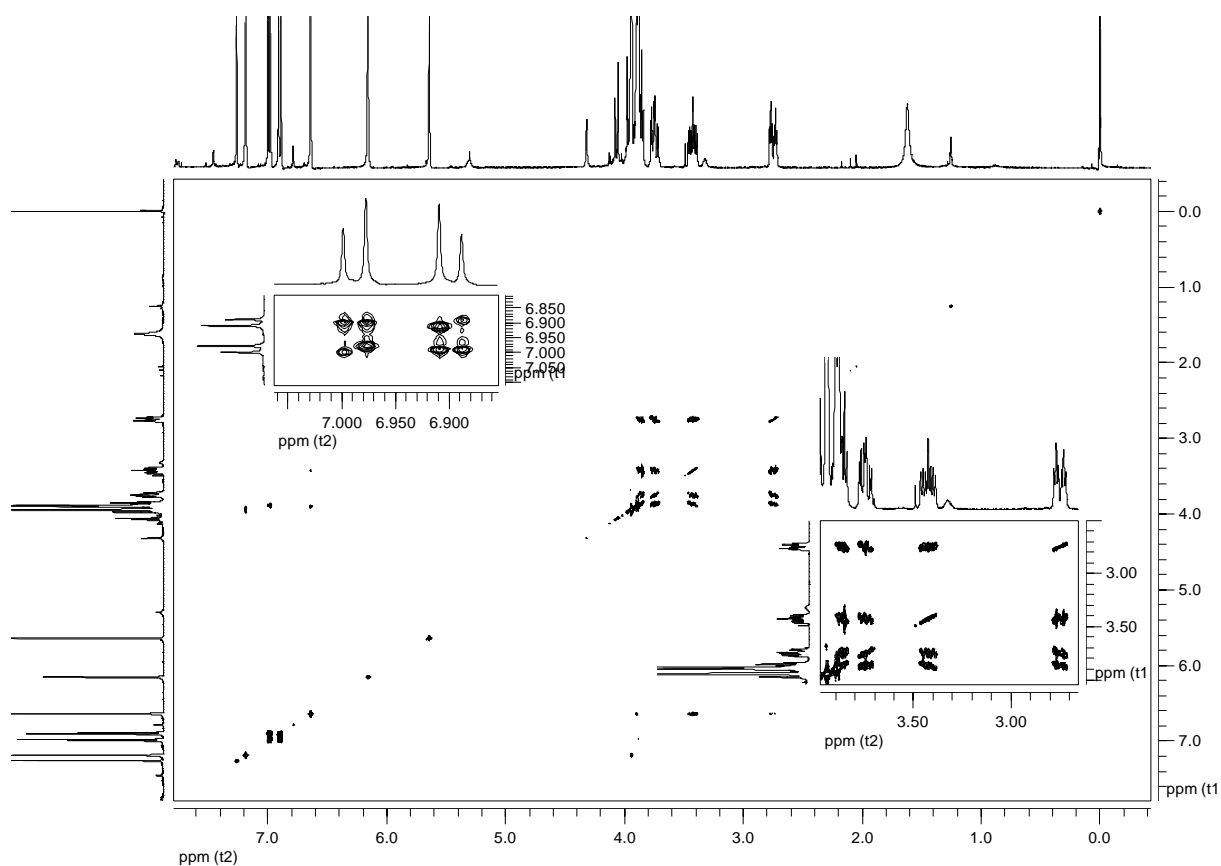


E216. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G43**.

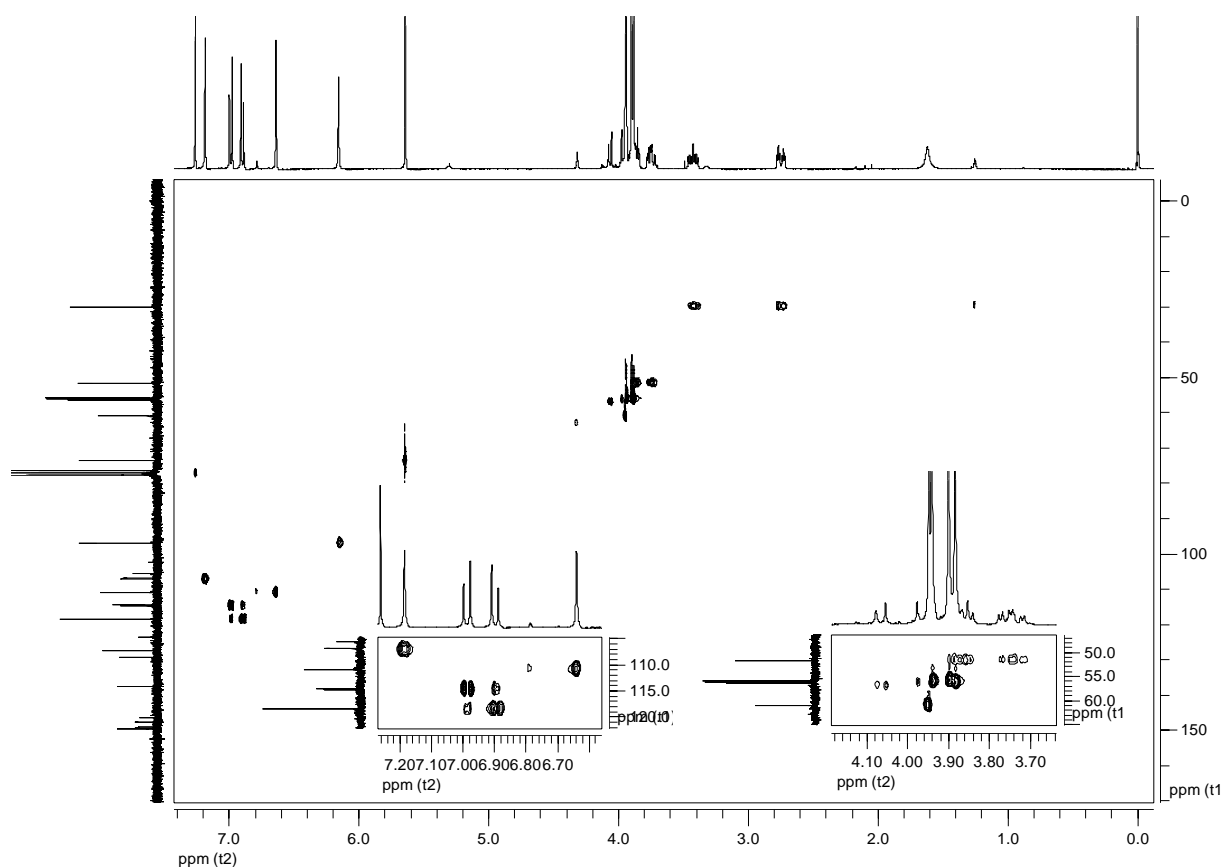




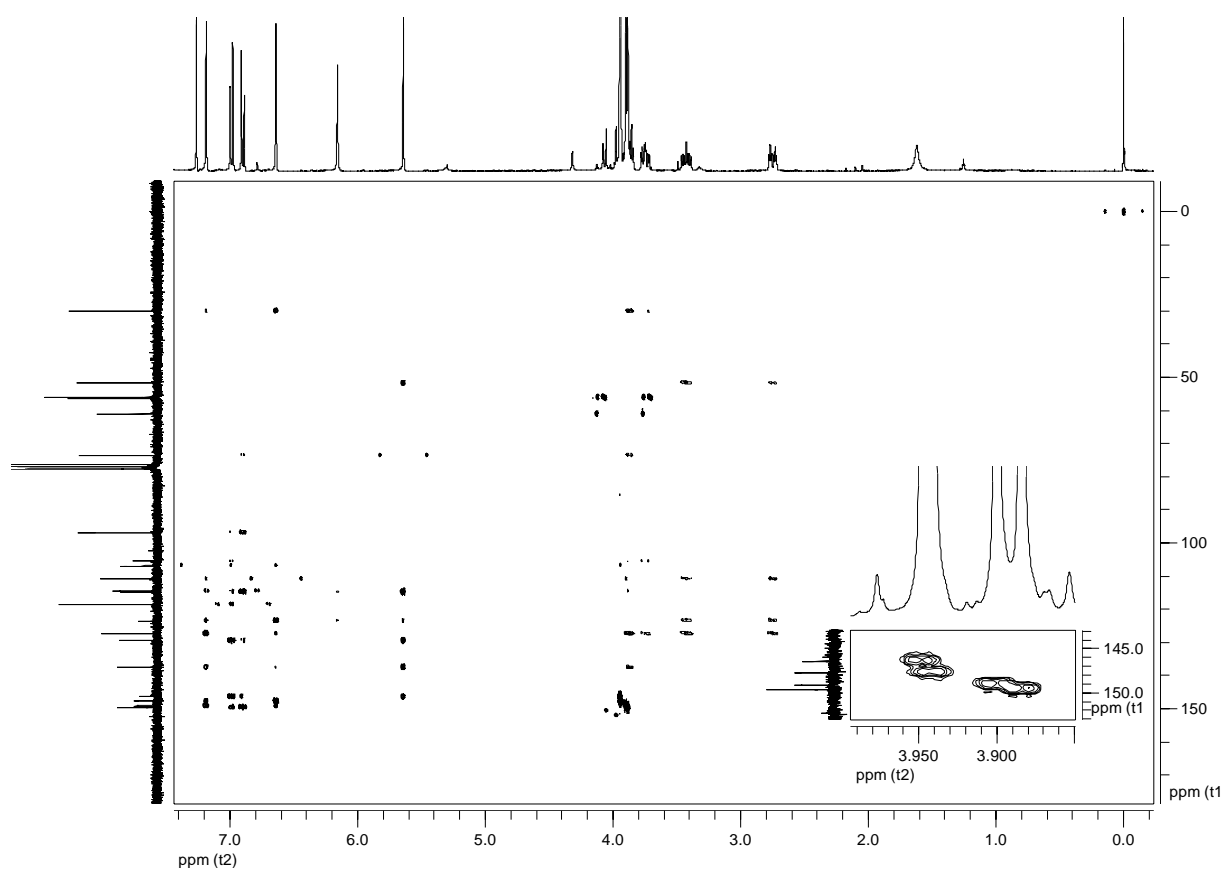
E219. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G43**.



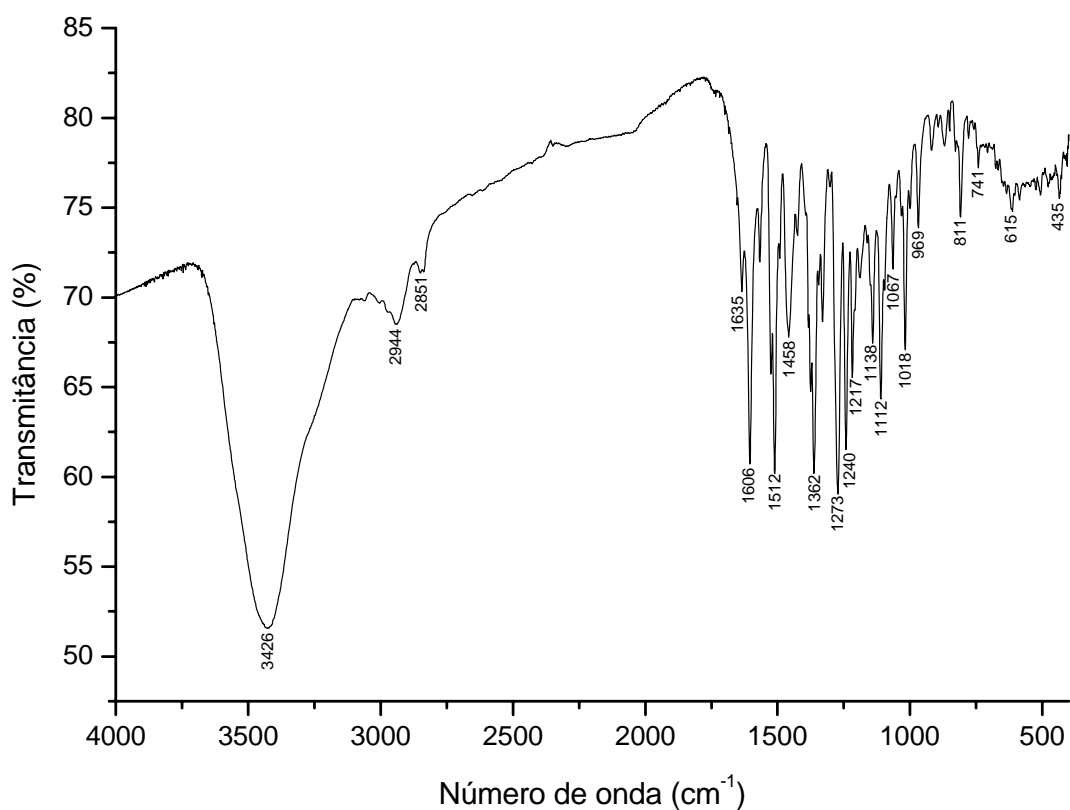
E220. Mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G43**.



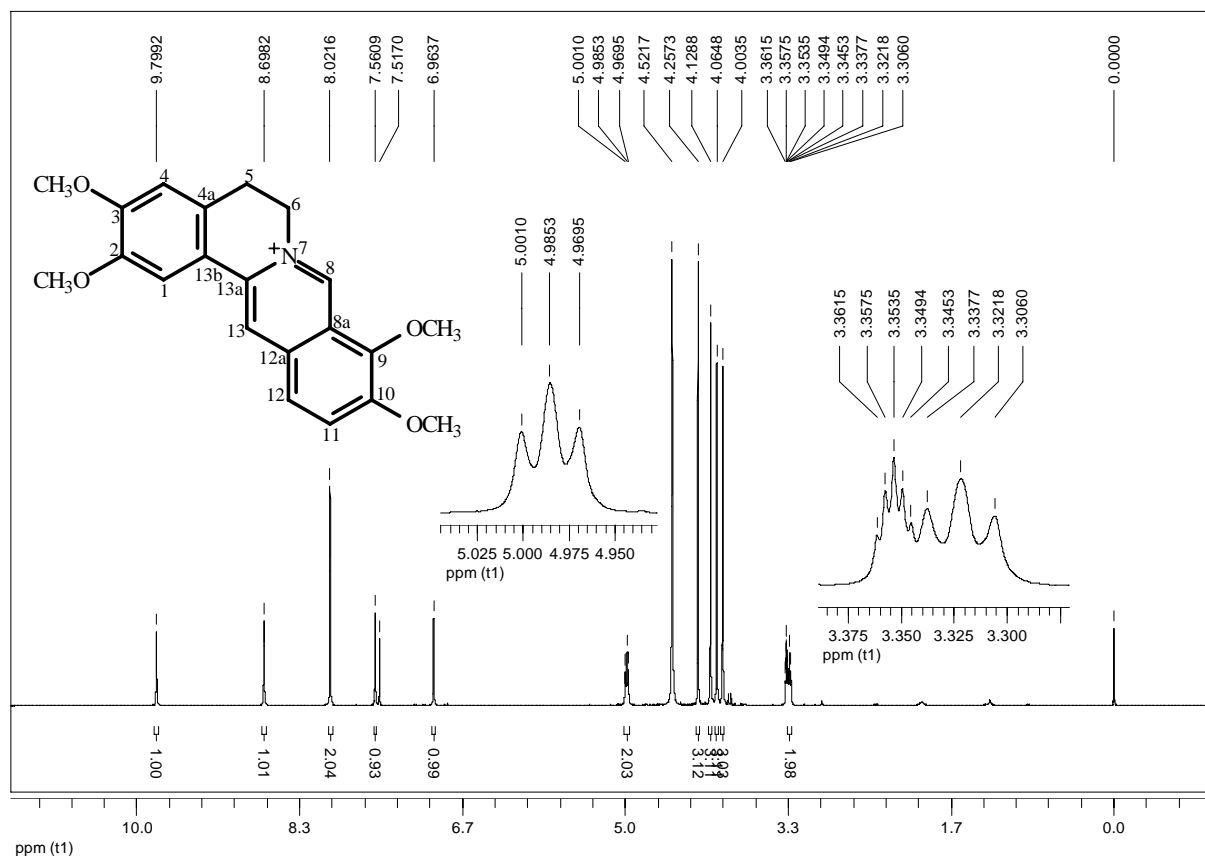
E221. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G43**.



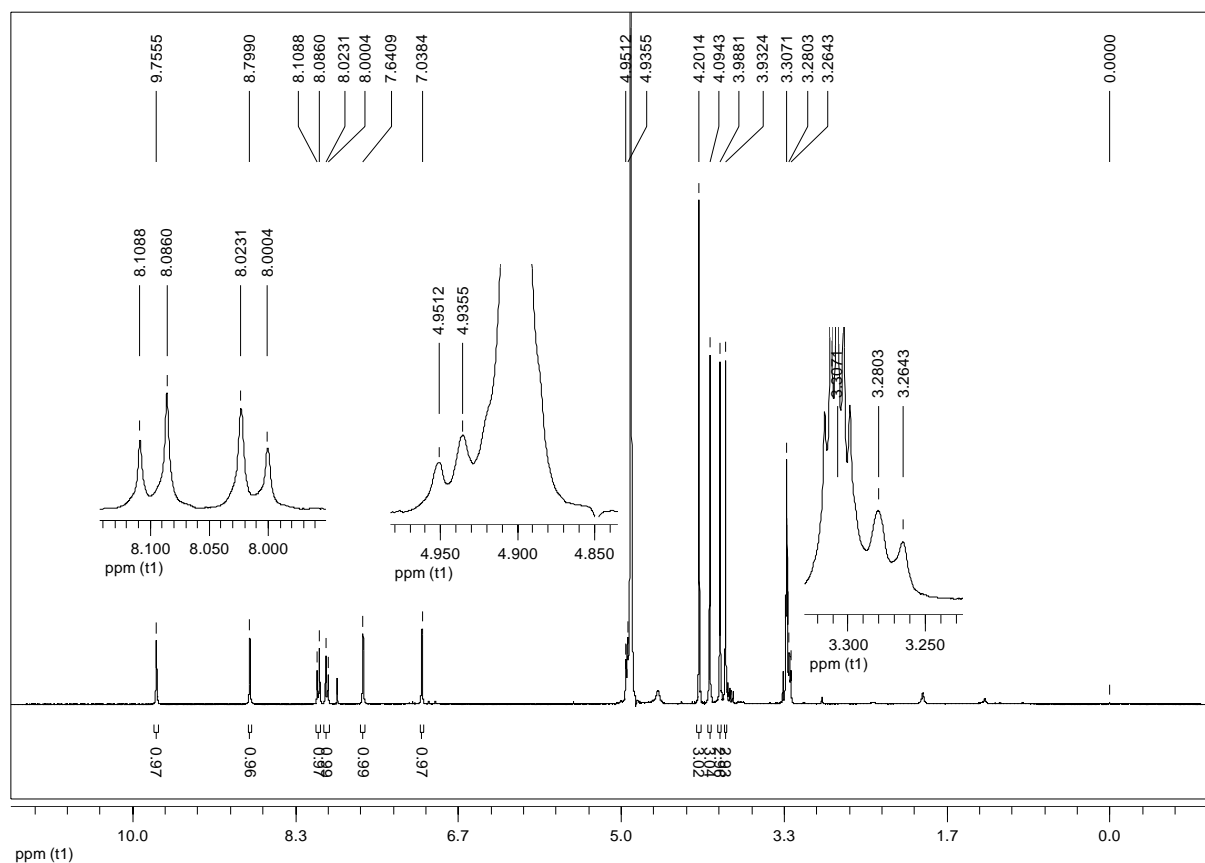
E222. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G43**.



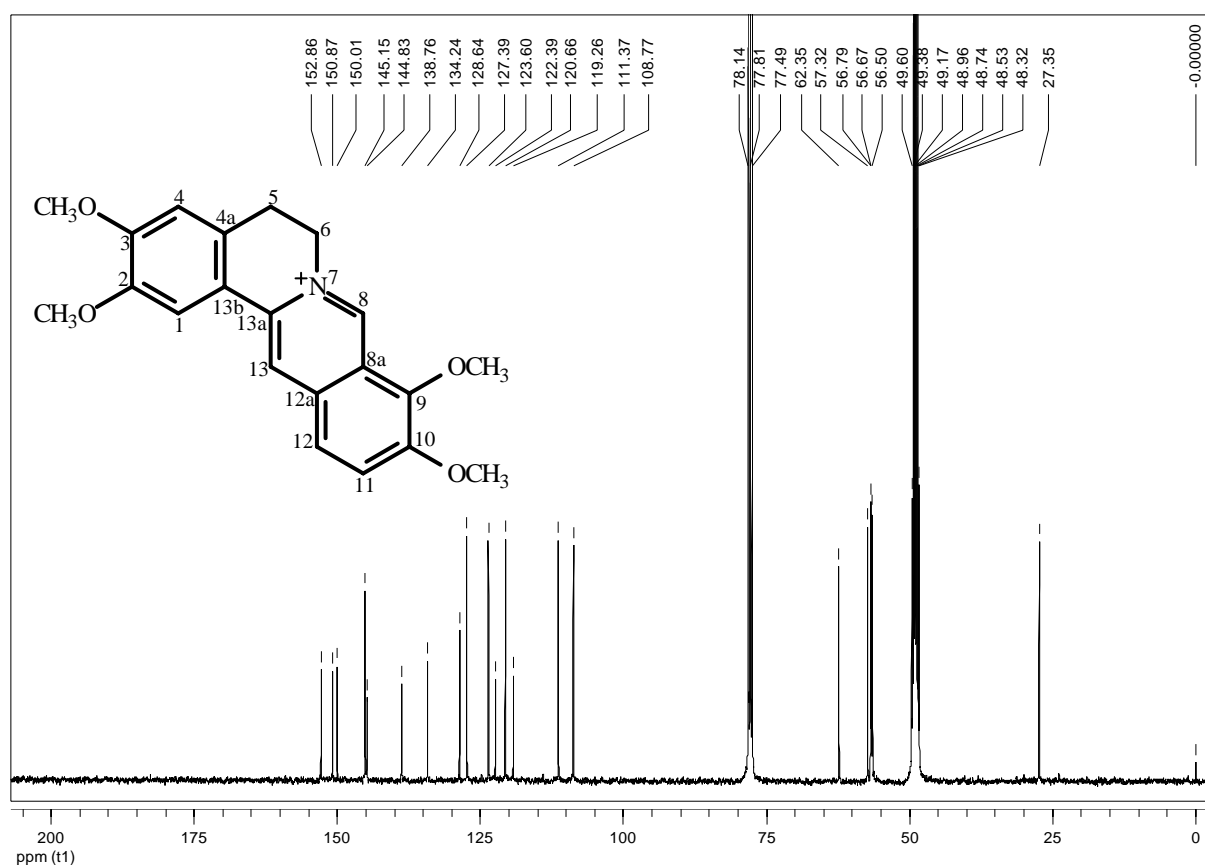
E223. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G44**.



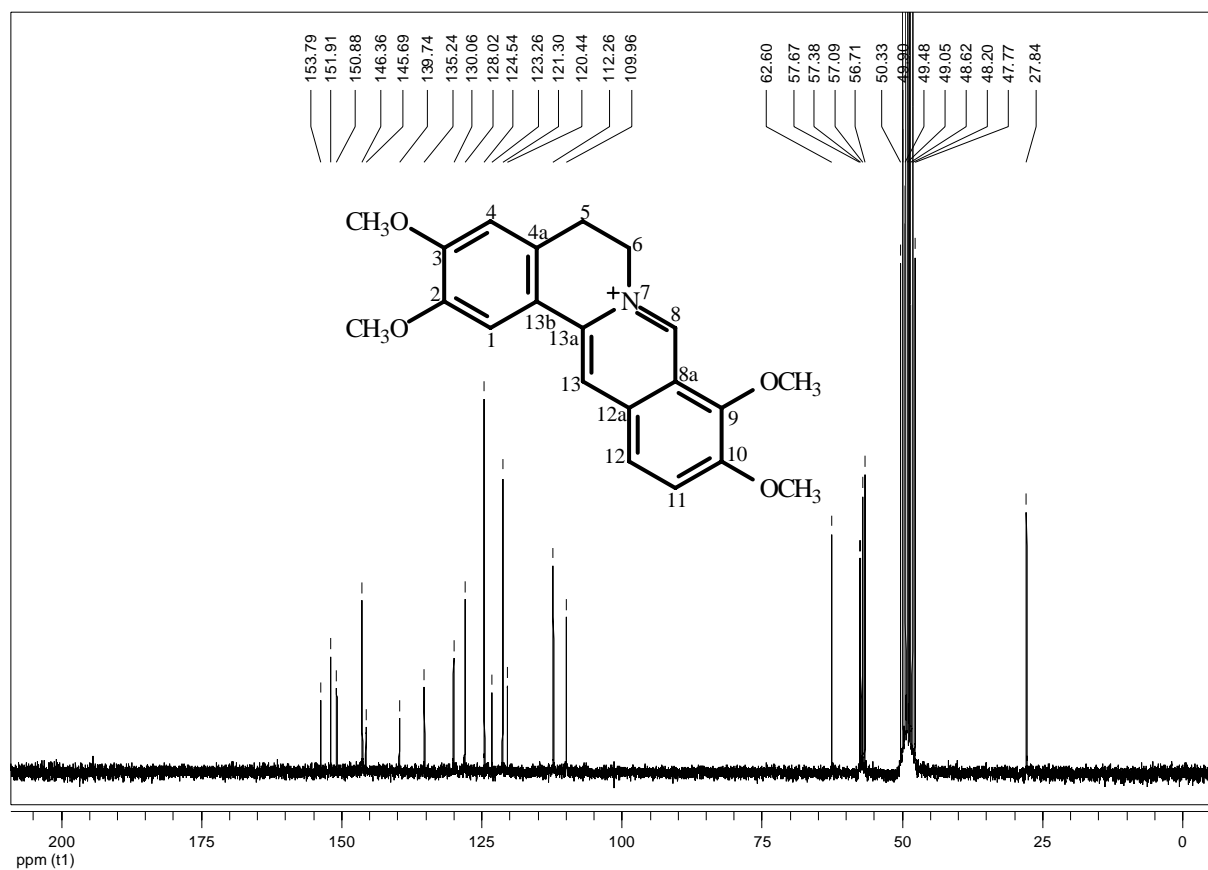
E224. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + CD₃OD 85:15) de **G44**.



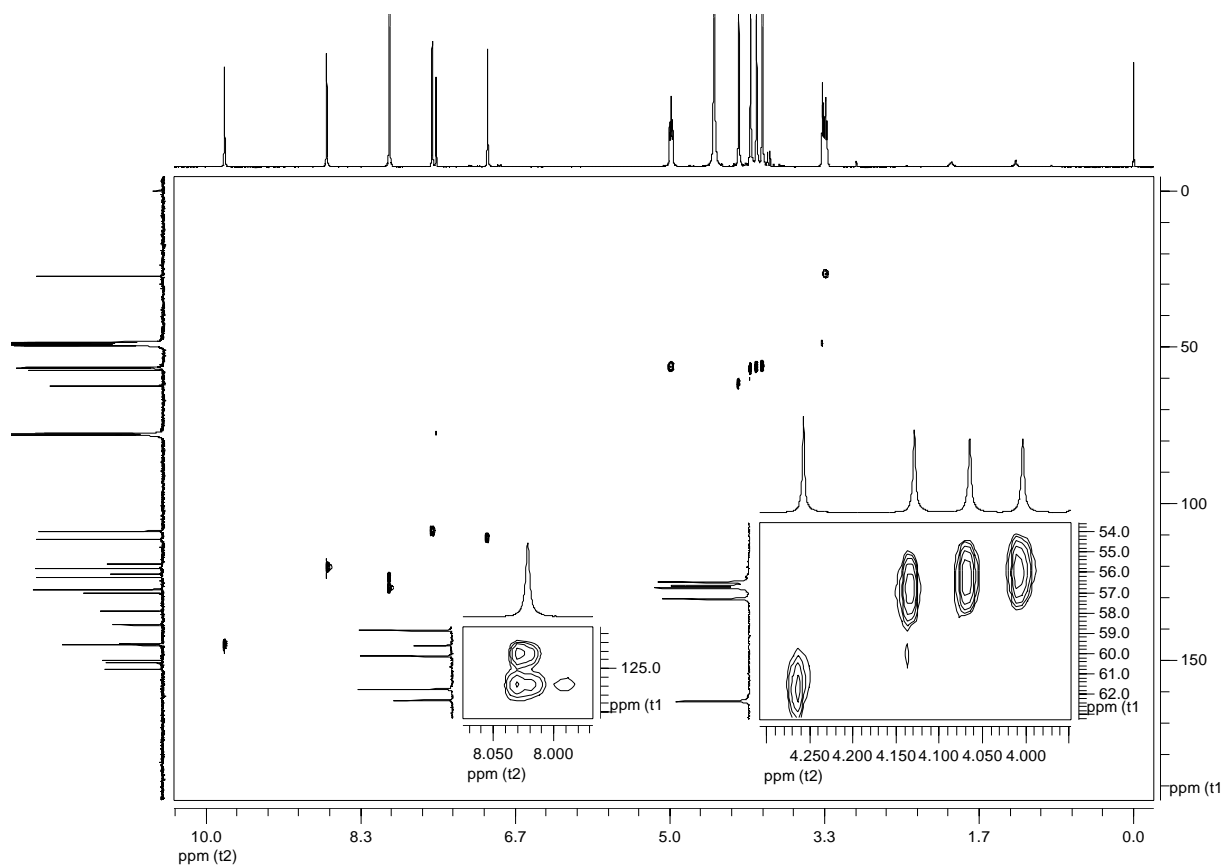
E225. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD₃OD) de **G44**.



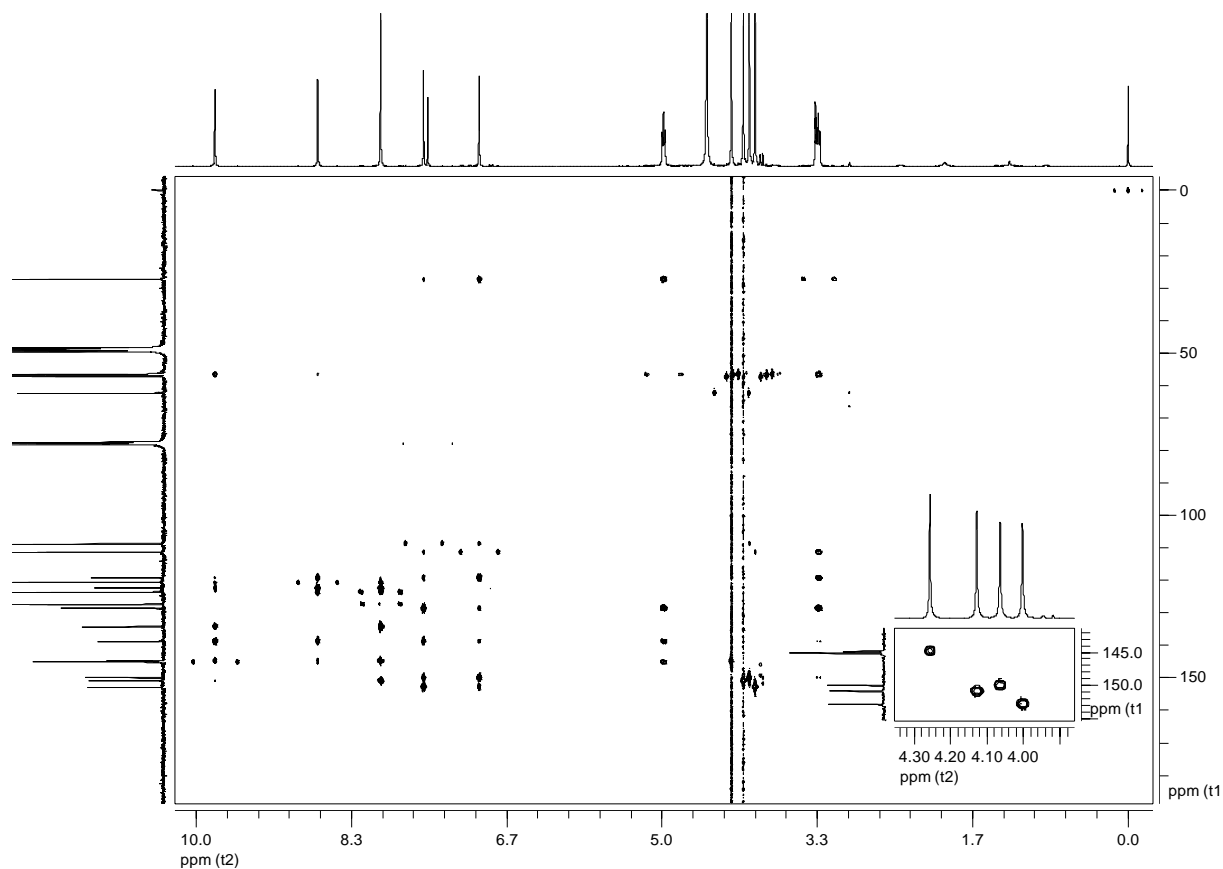
E226. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl₃ + CD₃OD 85:15) de **G44**.



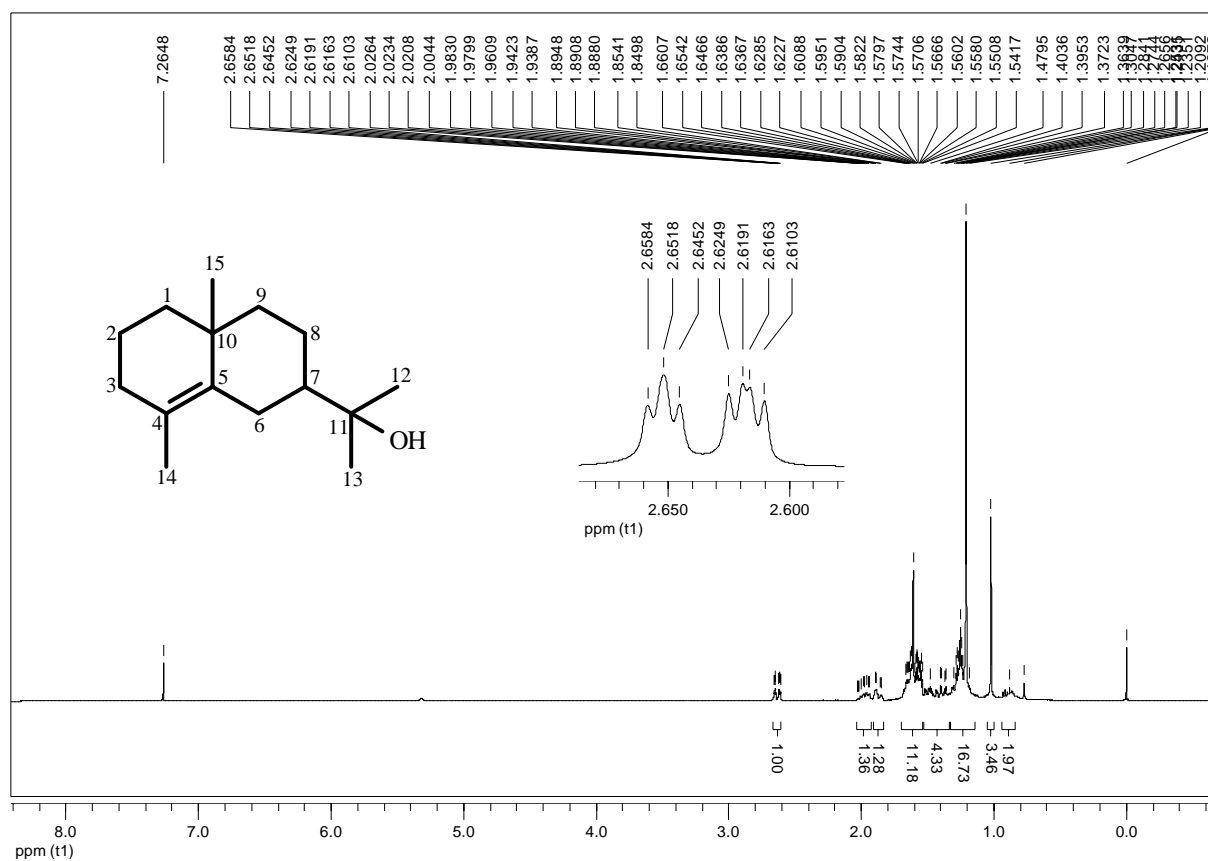
E227. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de **G44**.



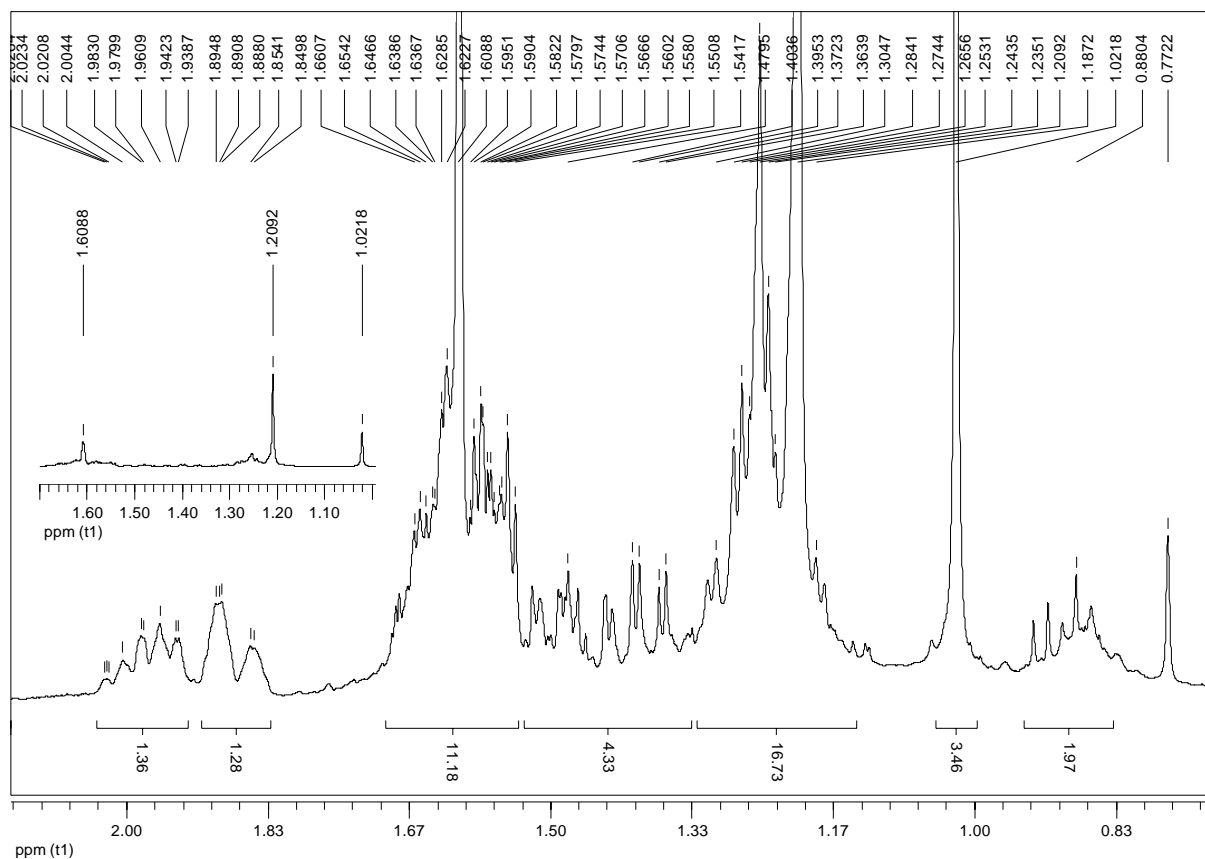
E228. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl₃ + CD₃OD 85:15) de **G44**.



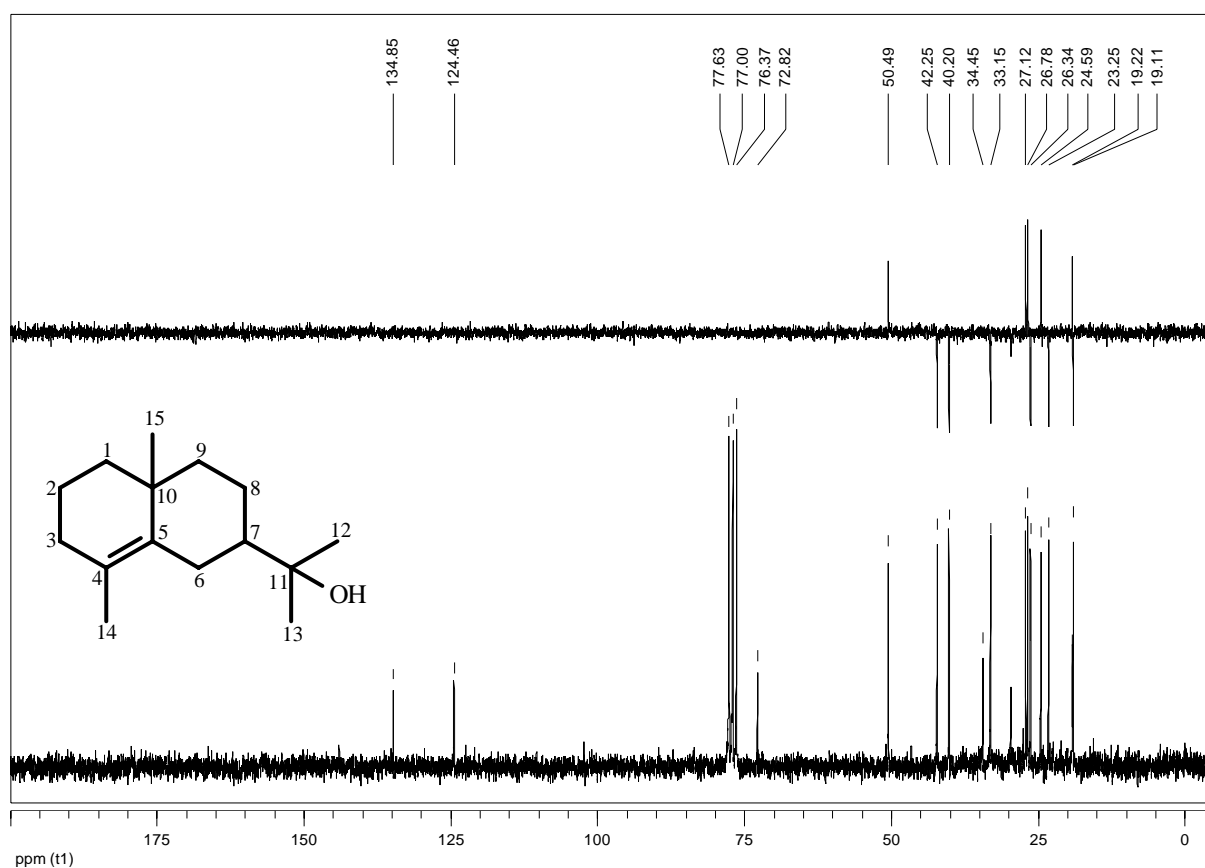
E229. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$ 85:15) de **G44**.



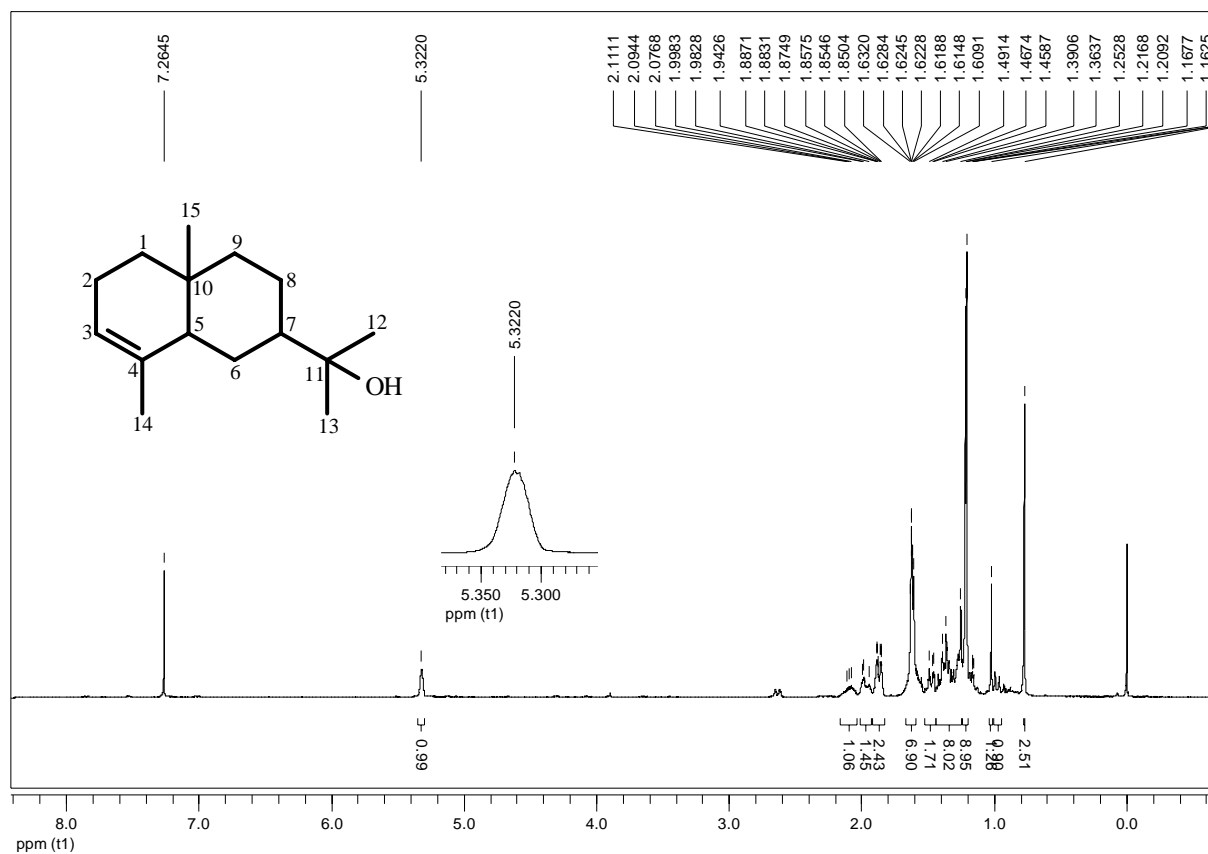
E230. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G7**.



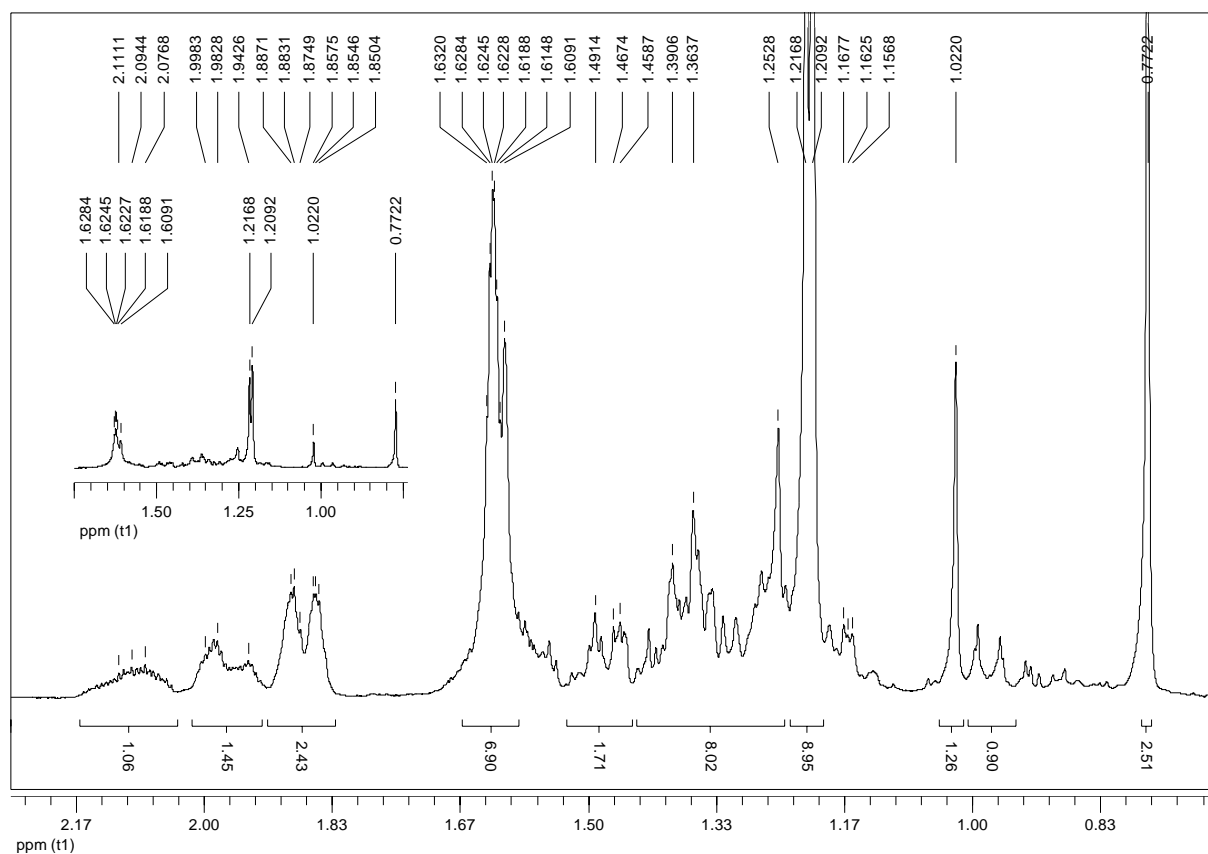
E231. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G7**.



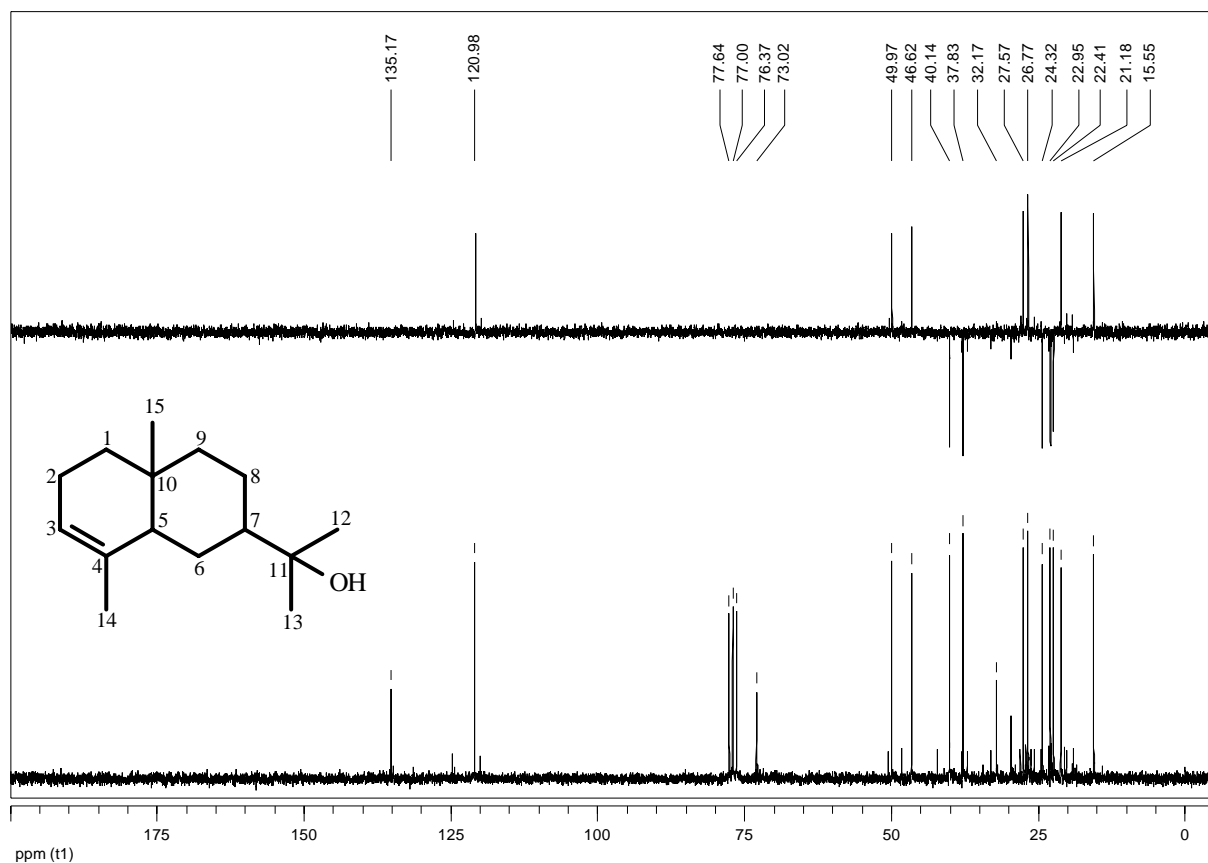
E232. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **G7**.



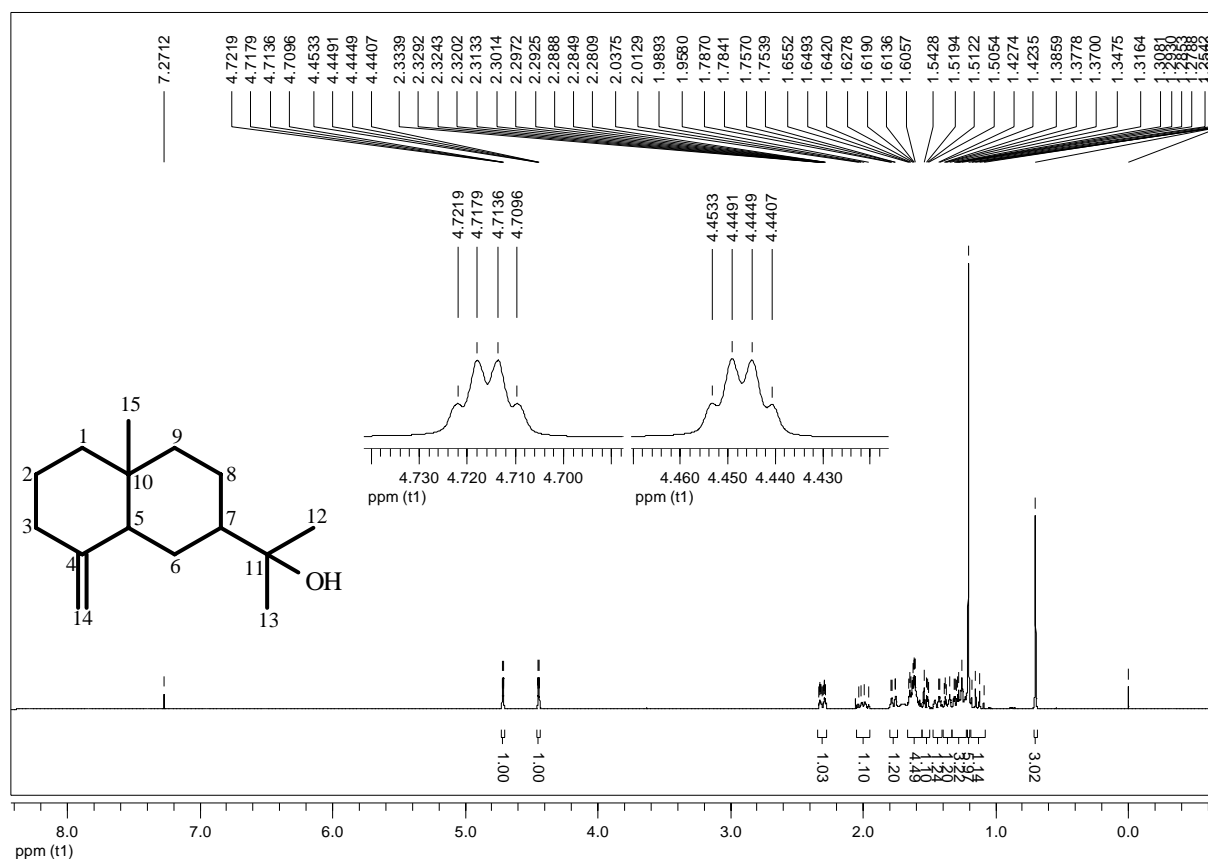
E233. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G8**.



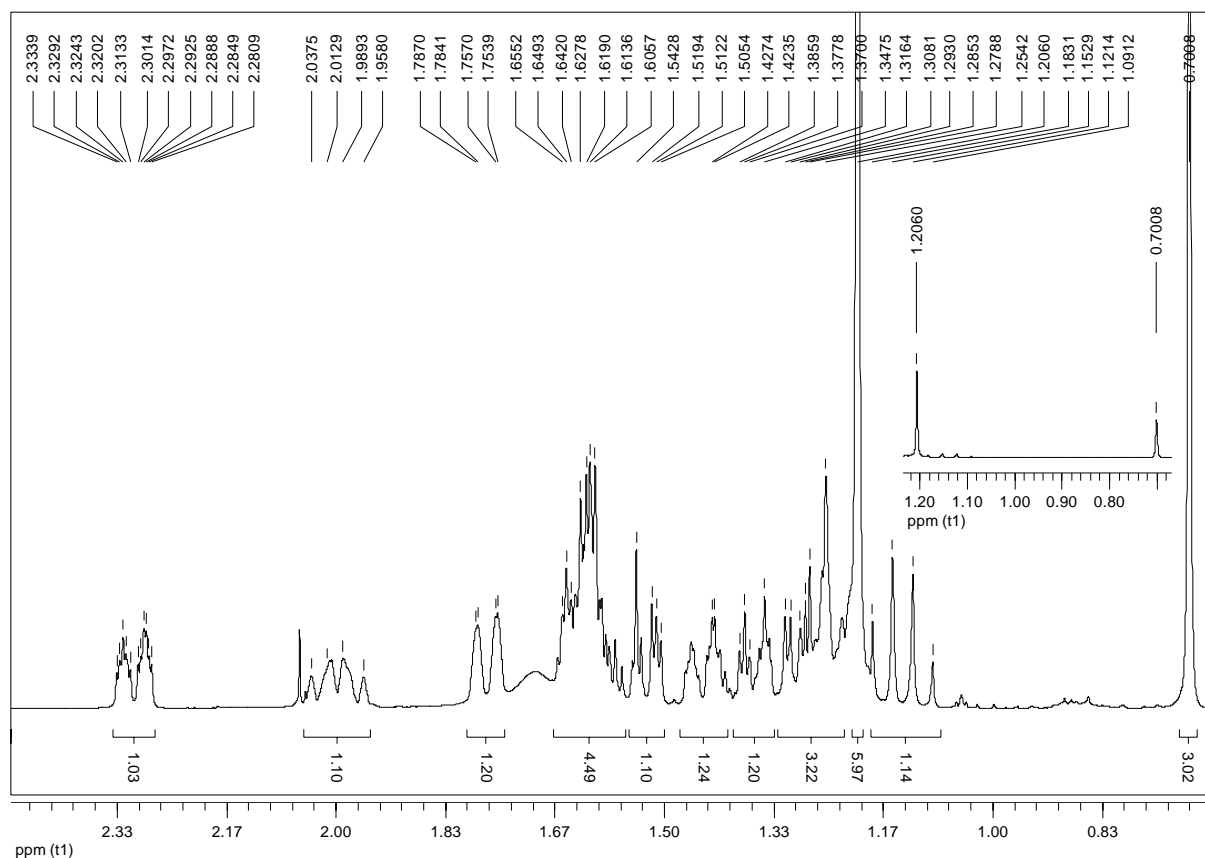
E234. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G8**.



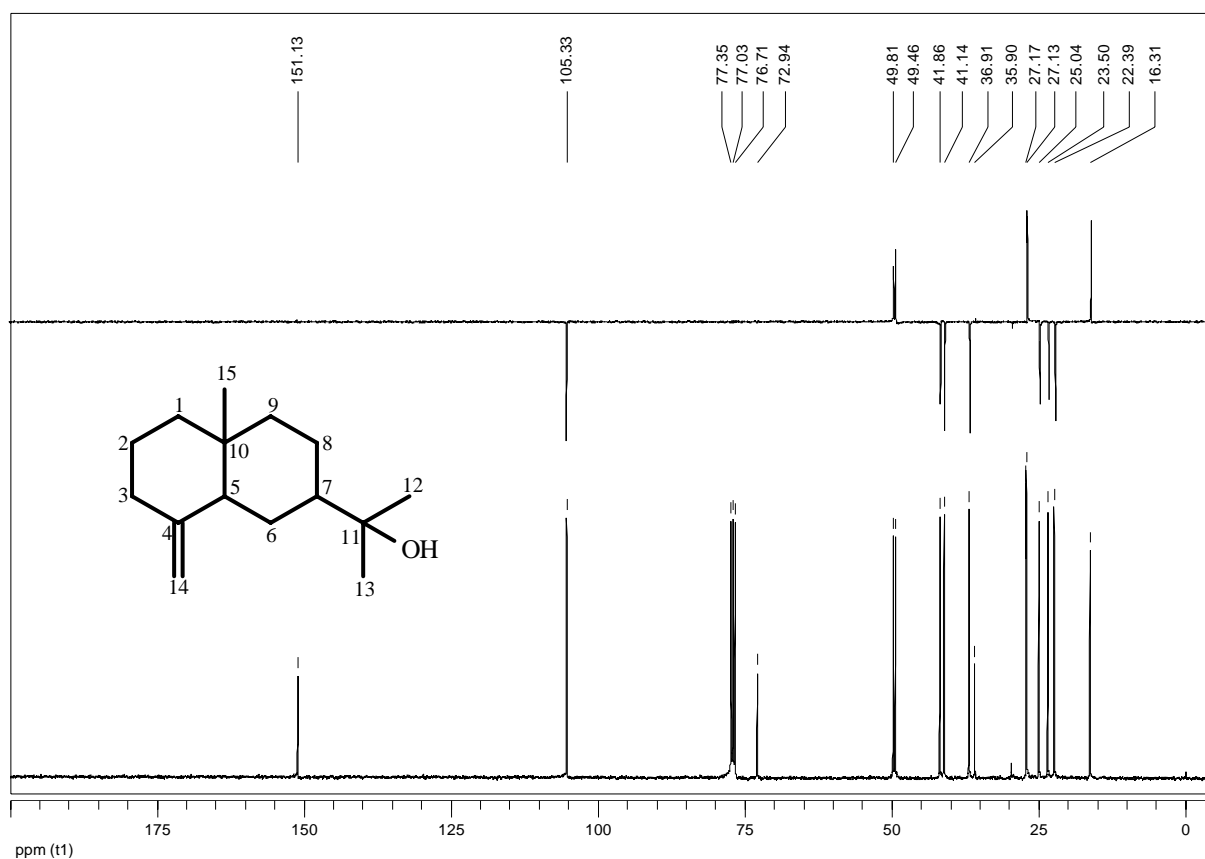
E235. Espectro de RMN de ^1H (50 MHz, CDCl_3) de **G8**.



E236. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G9**.



E237. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G9**.

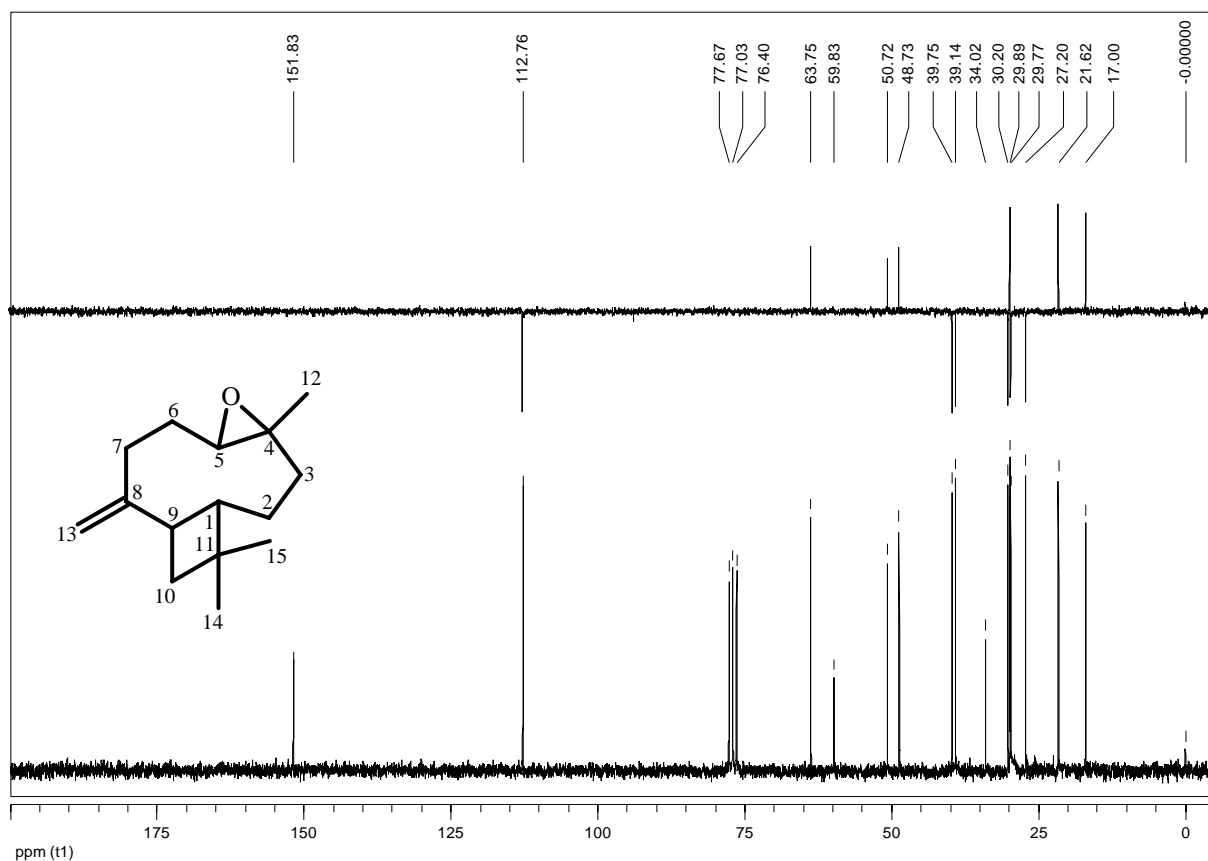
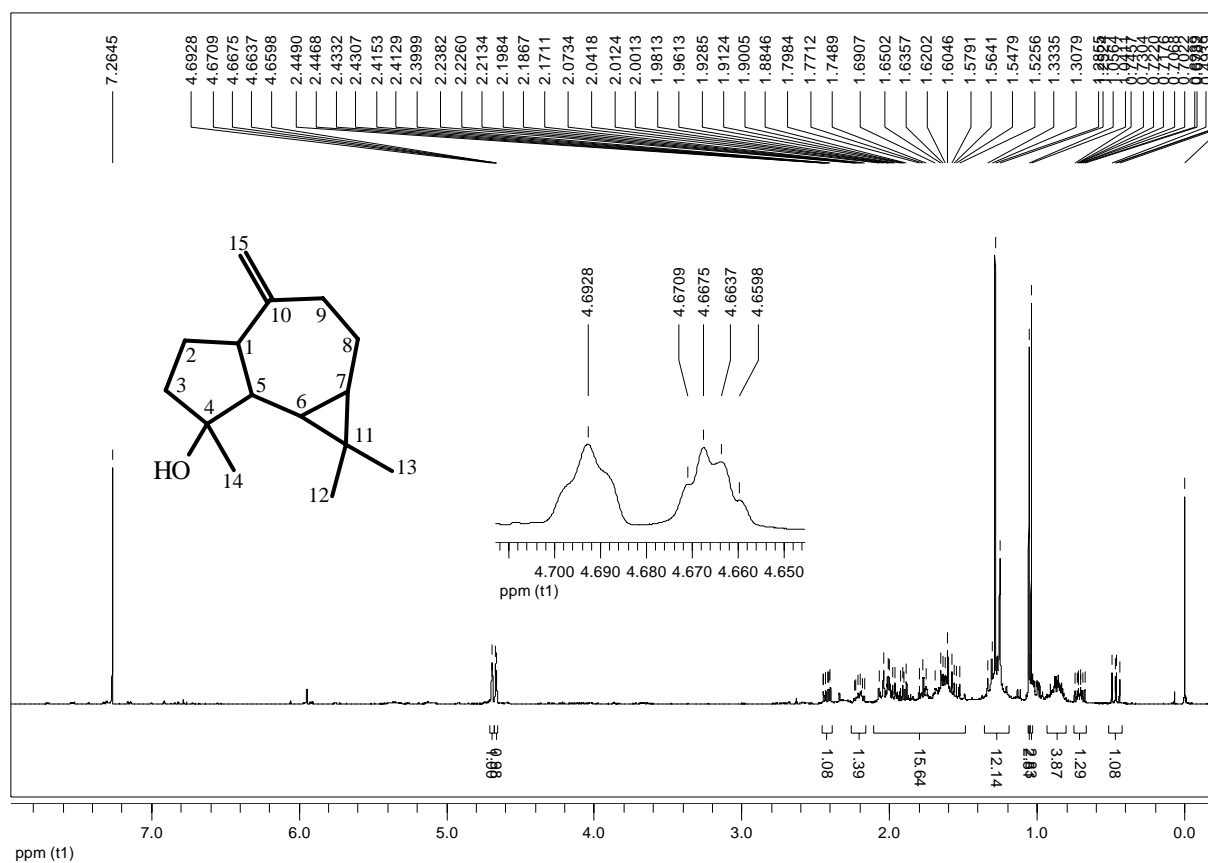


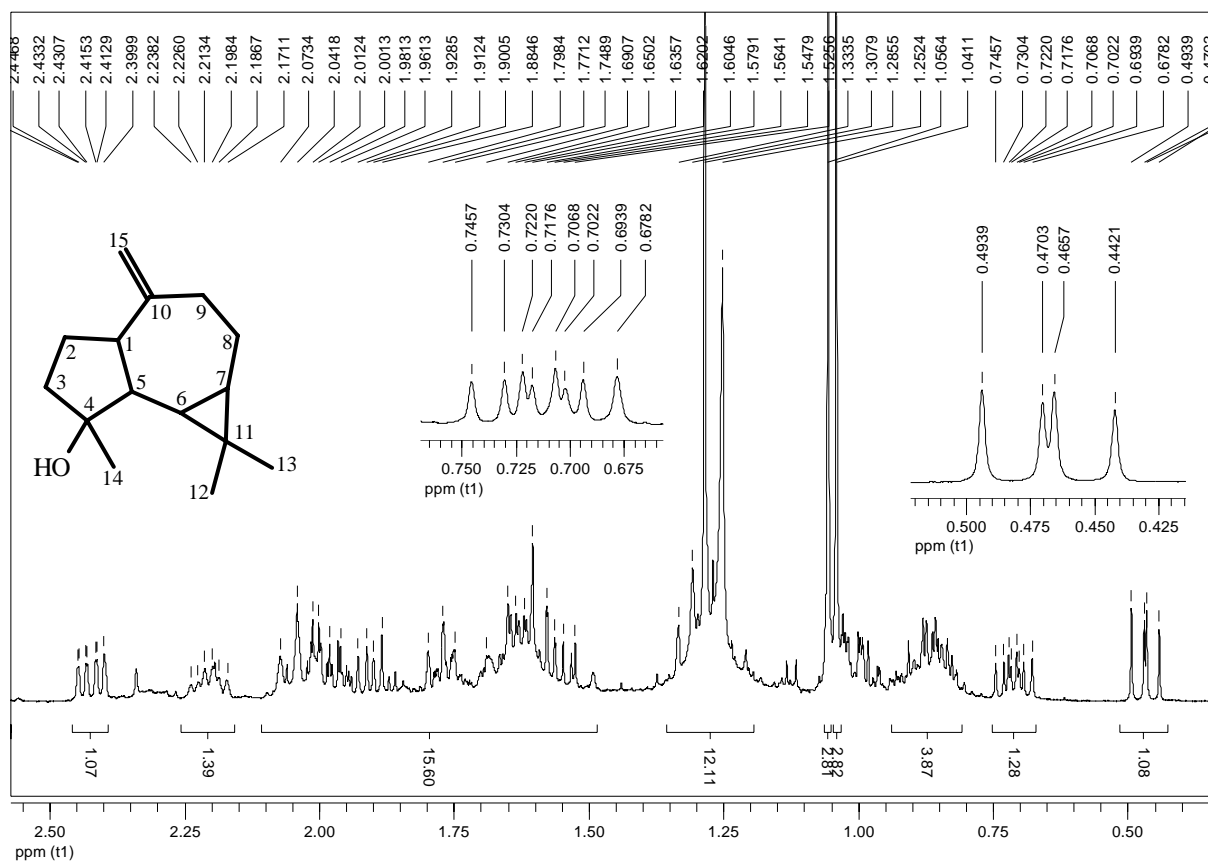
E238. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **G9**.

¹H NMR spectrum of compound 10a in CDCl₃. The spectrum displays peaks from 0.9 to 2.9 ppm. Key features include a triplet at ~0.98 ppm (3H), a multiplet at ~1.6-1.8 ppm (12H), a large singlet at ~2.09 ppm (29H), and a multiplet at ~2.3-2.4 ppm (10H). Integration values are shown below the baseline. Two insets provide expanded views of the 2.2-2.4 ppm and 1.7-1.8 ppm regions.

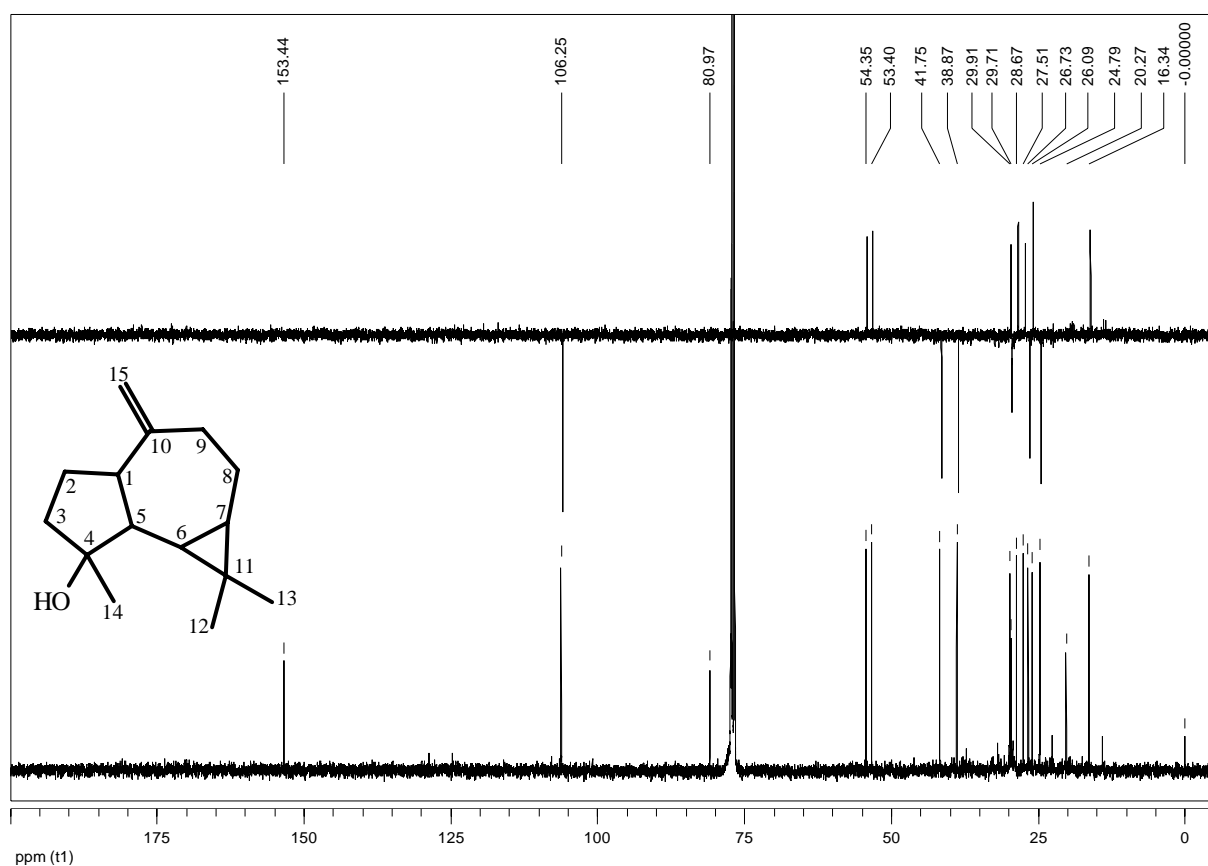
Chemical Shift (ppm)	Integration
~0.98	0.98
~1.6-1.8	1.12, 3.46, 1.03, 2.15, 2.99
~2.09	2.99
~2.3-2.4	1.10, 1.15, 2.14

E240. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G11**.

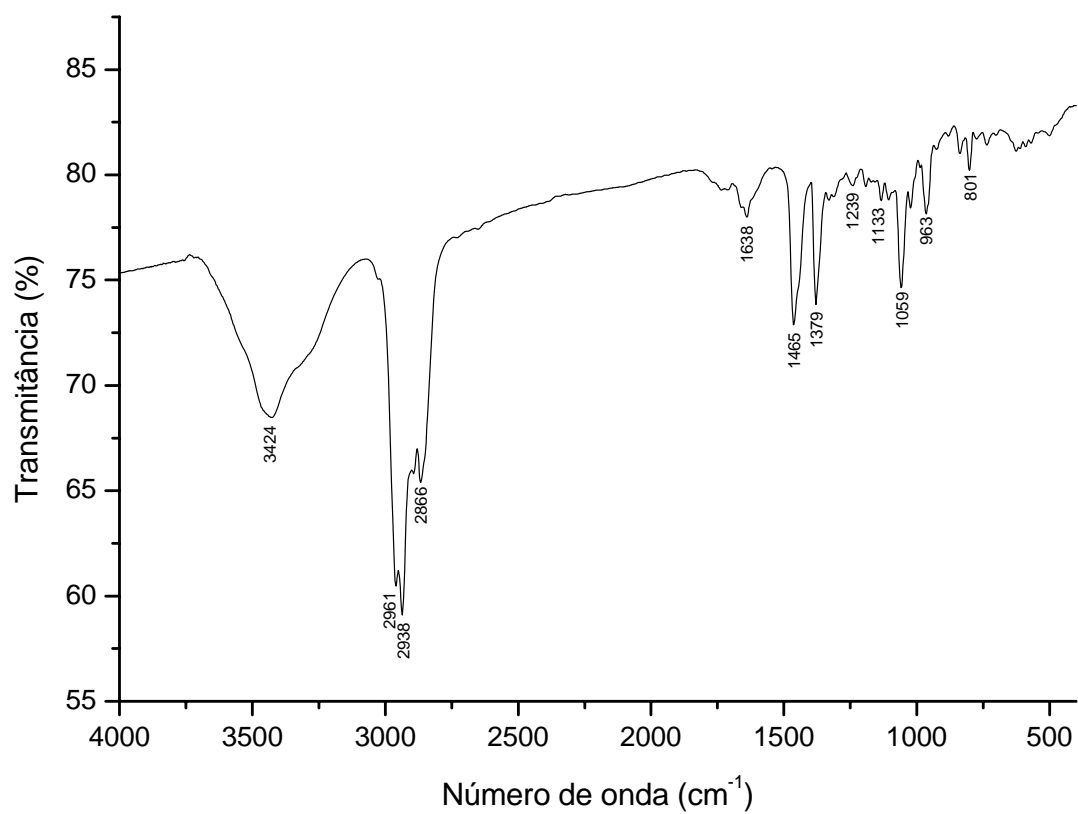
E241. Espectro de RMN de ^1H (50 MHz, CDCl_3) de G11.E242. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de G13.



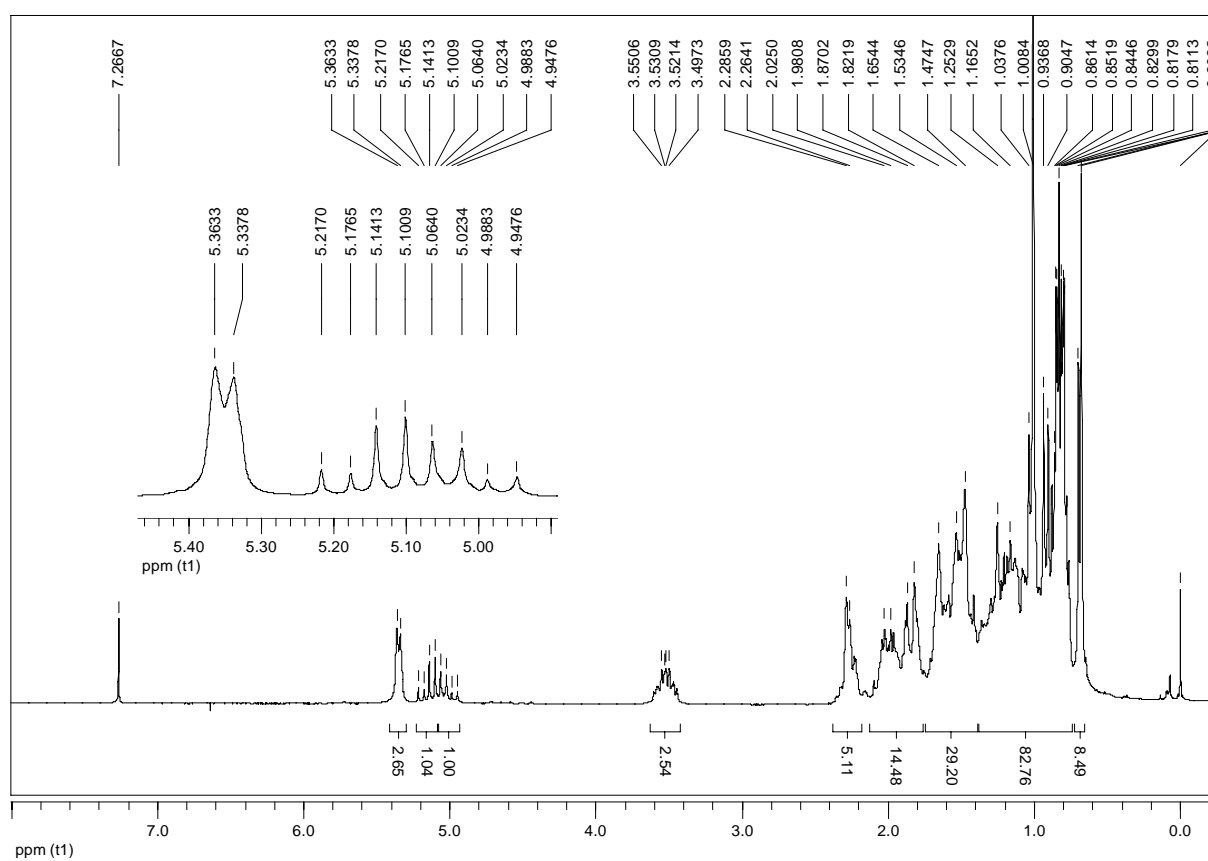
E243. Ampliação do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **G13**.



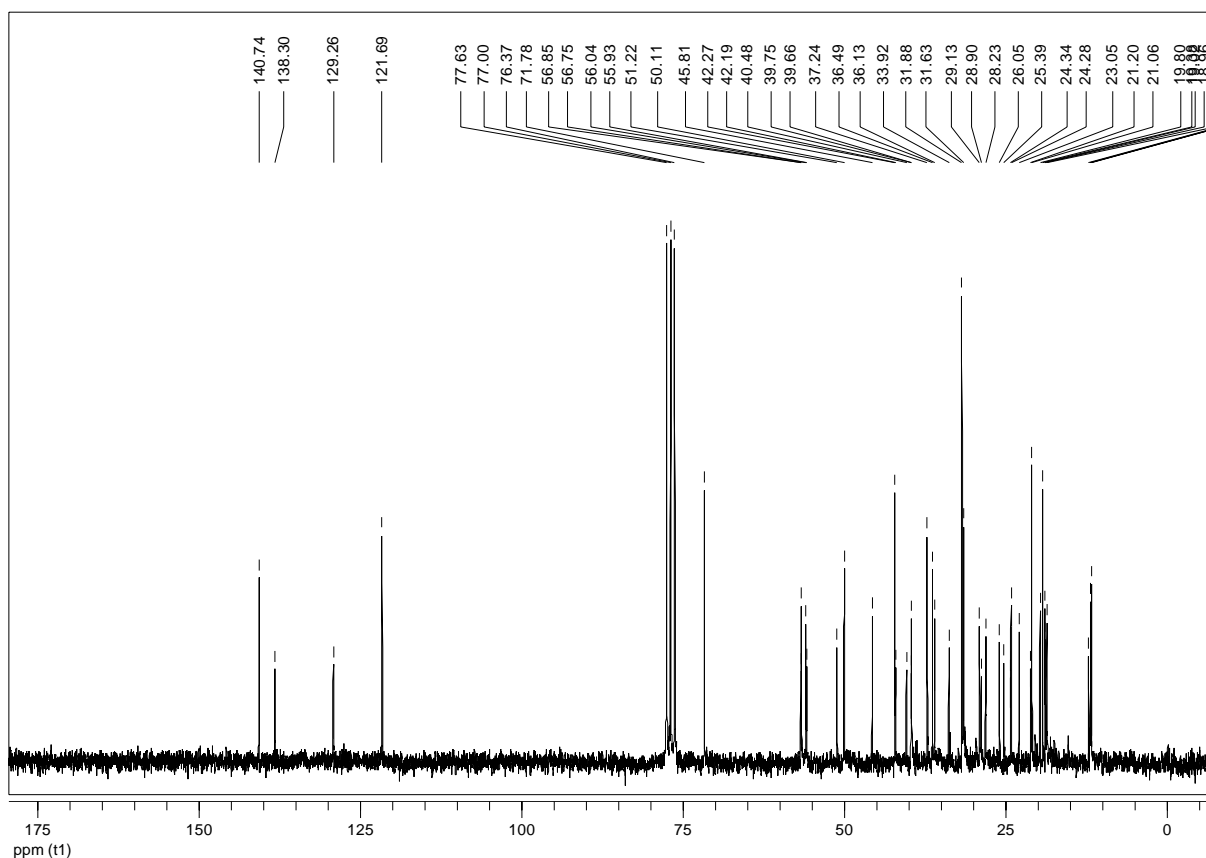
E244. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de **G13**.



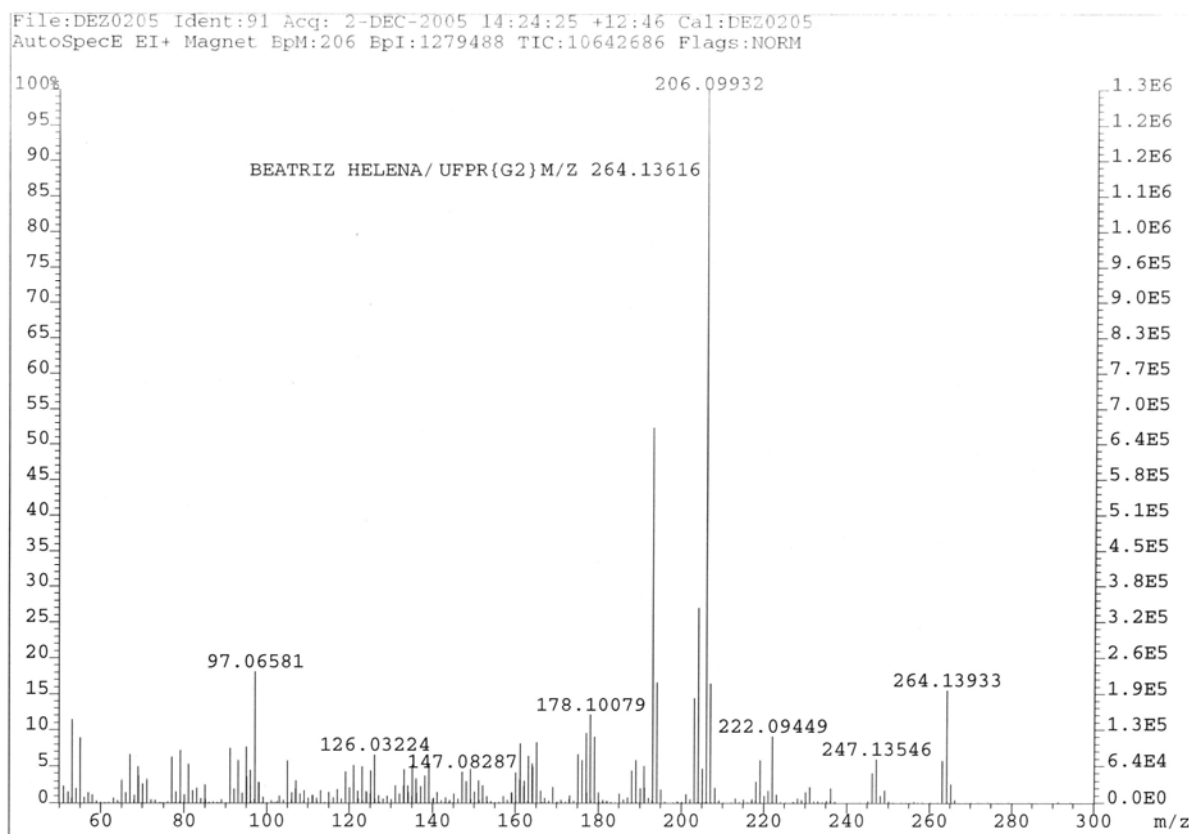
E245. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G1**.



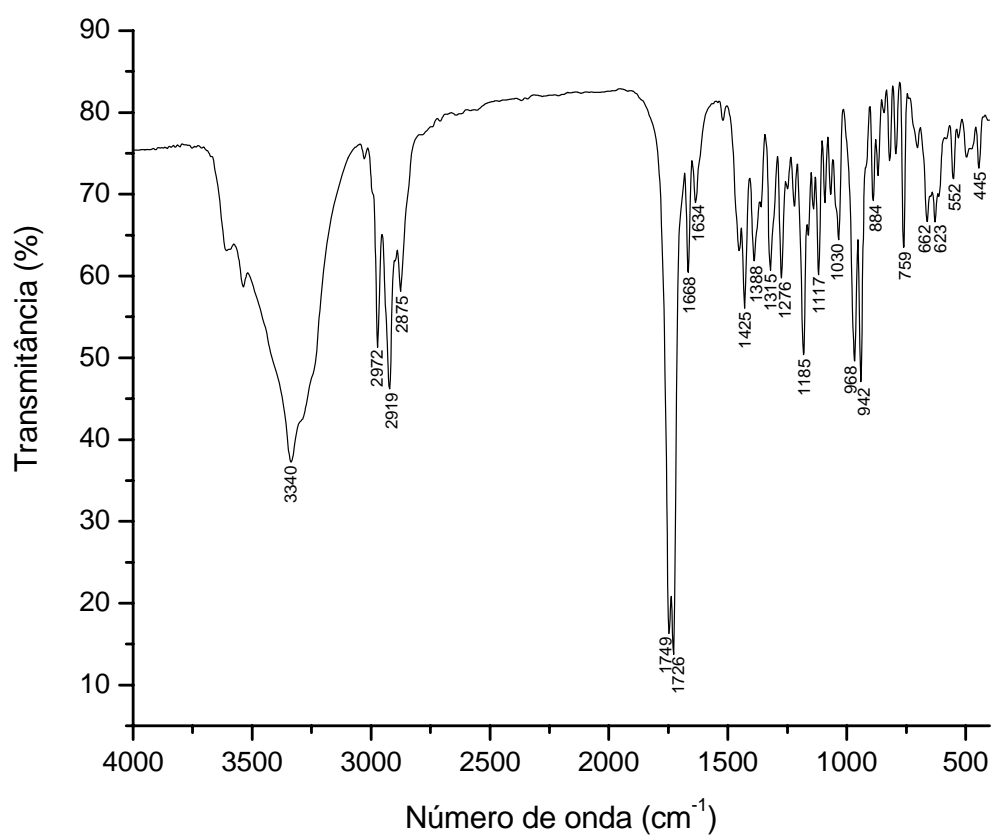
E246. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de **G1**.



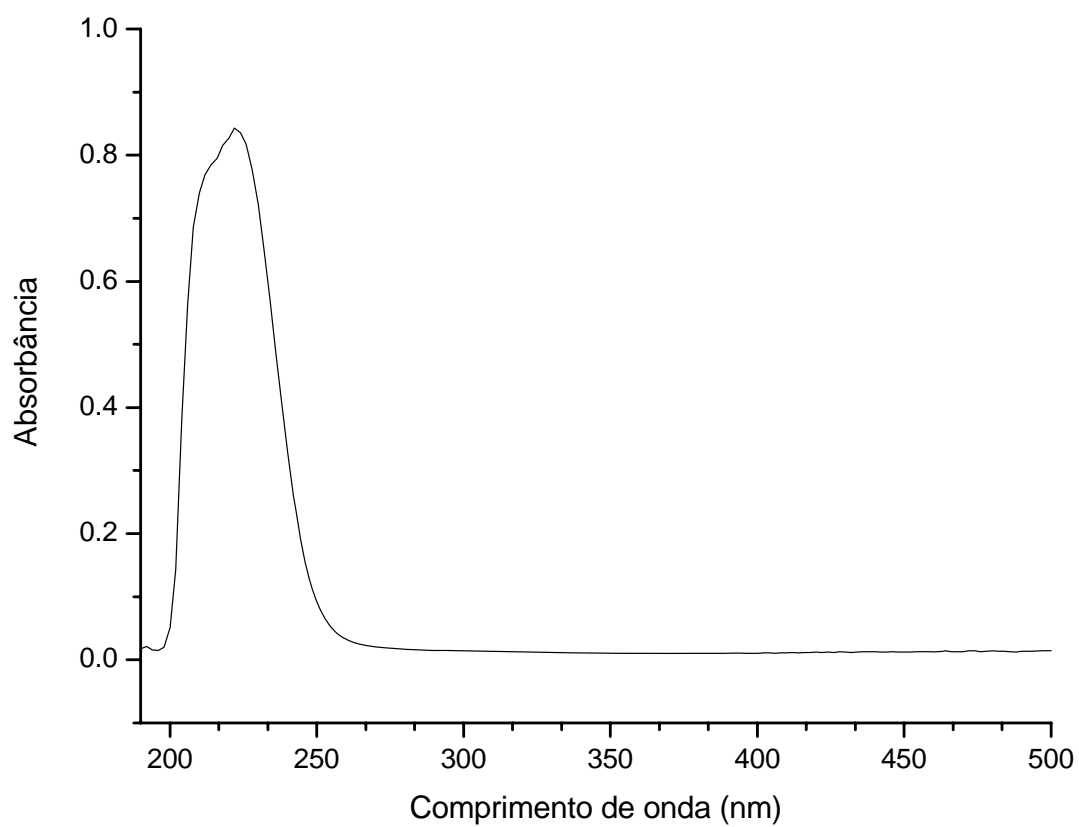
E247. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **G1**.



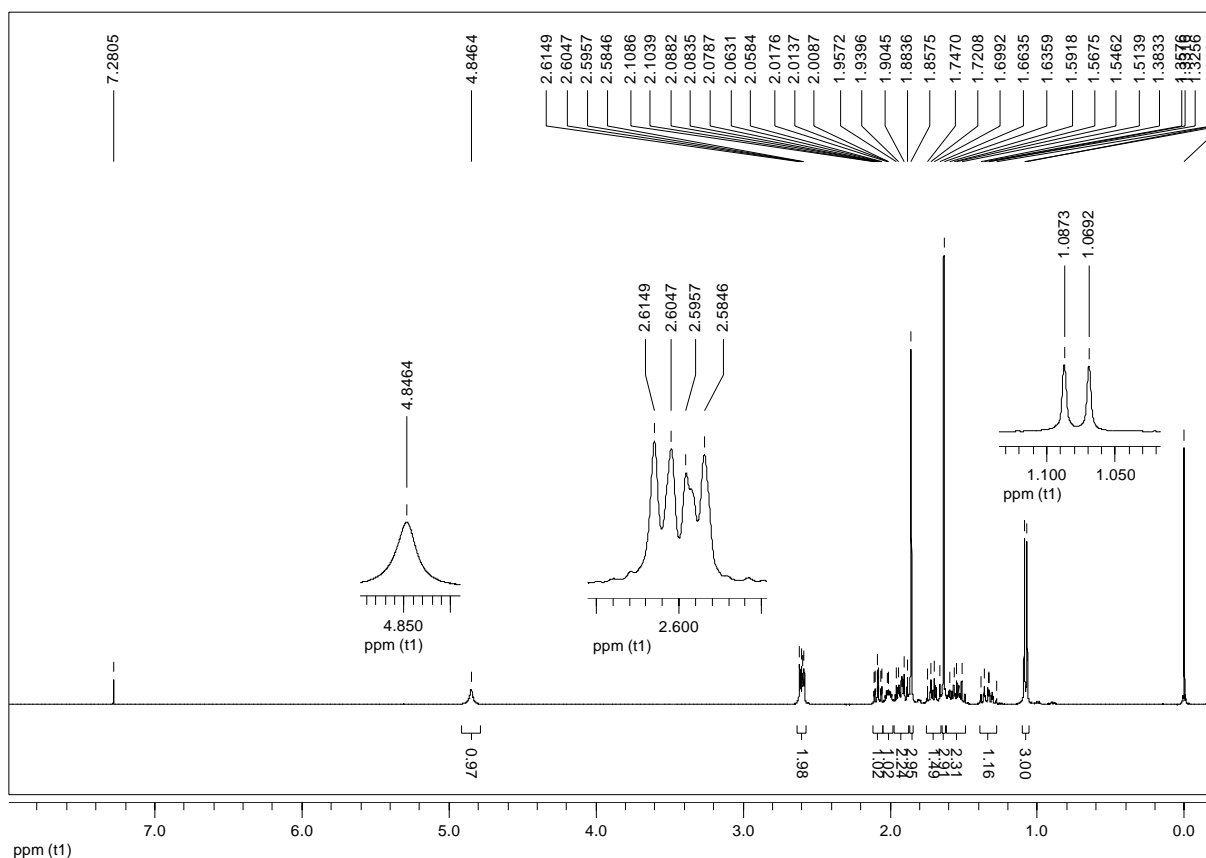
E248. Espectro de massas de alta resolução de **G2** (HREIMS).



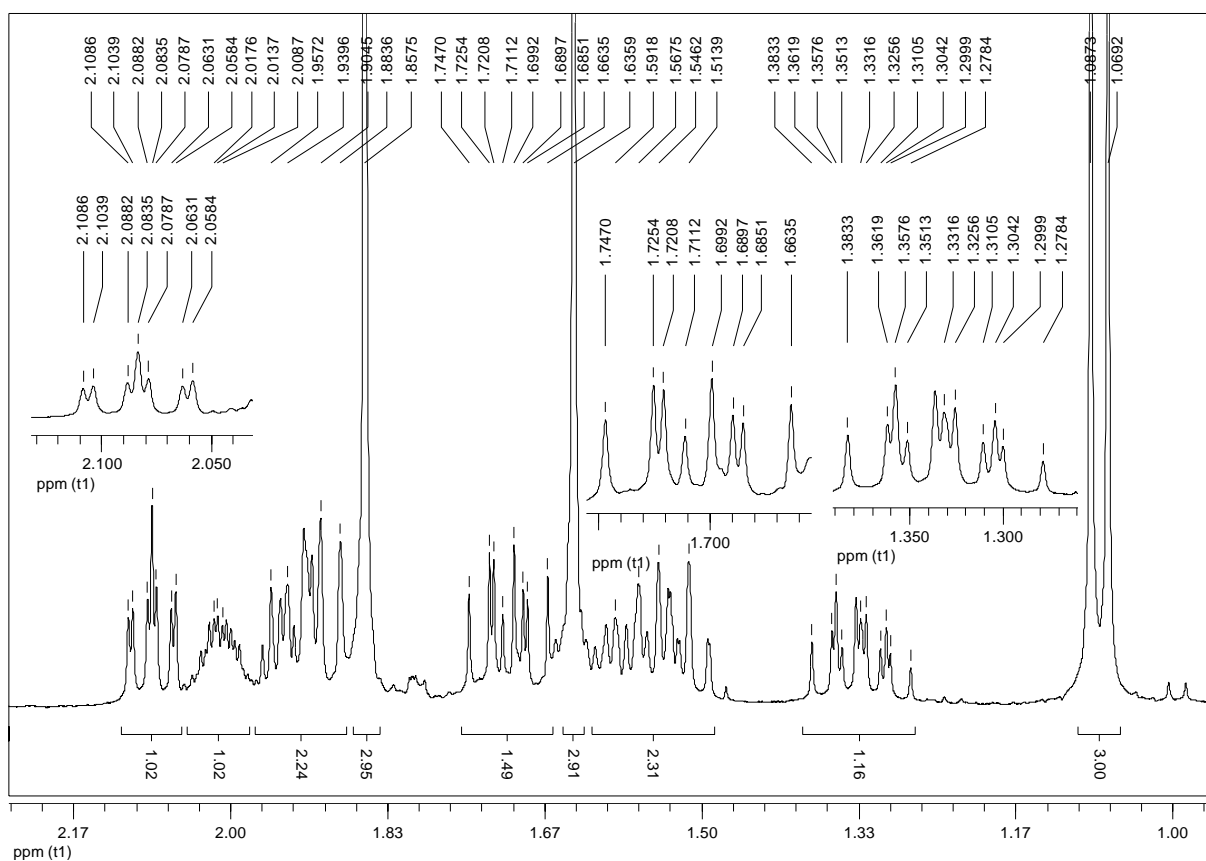
E249. Espectro de absorção na região do IV (KBr) de **G2**.



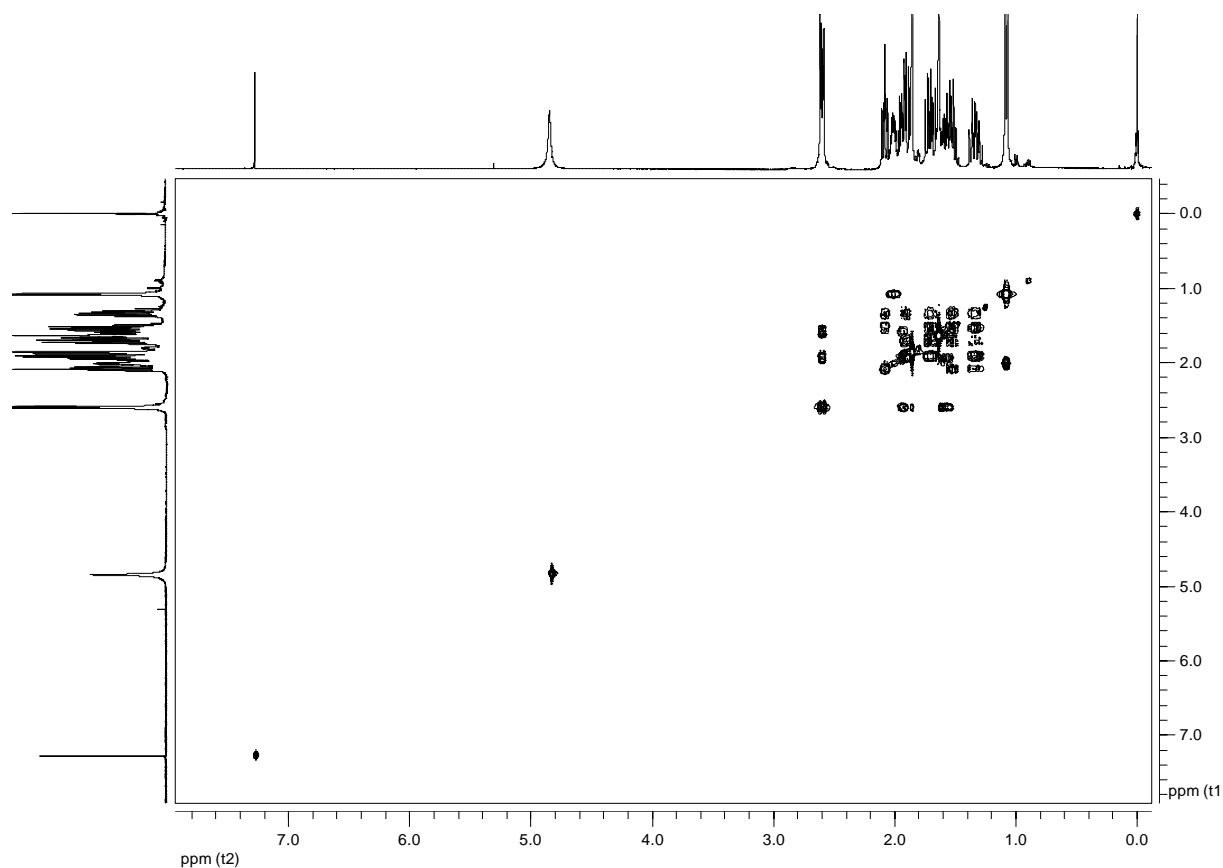
E250. Espectro de absorção na região do UV (CH_3OH) de **G2**.



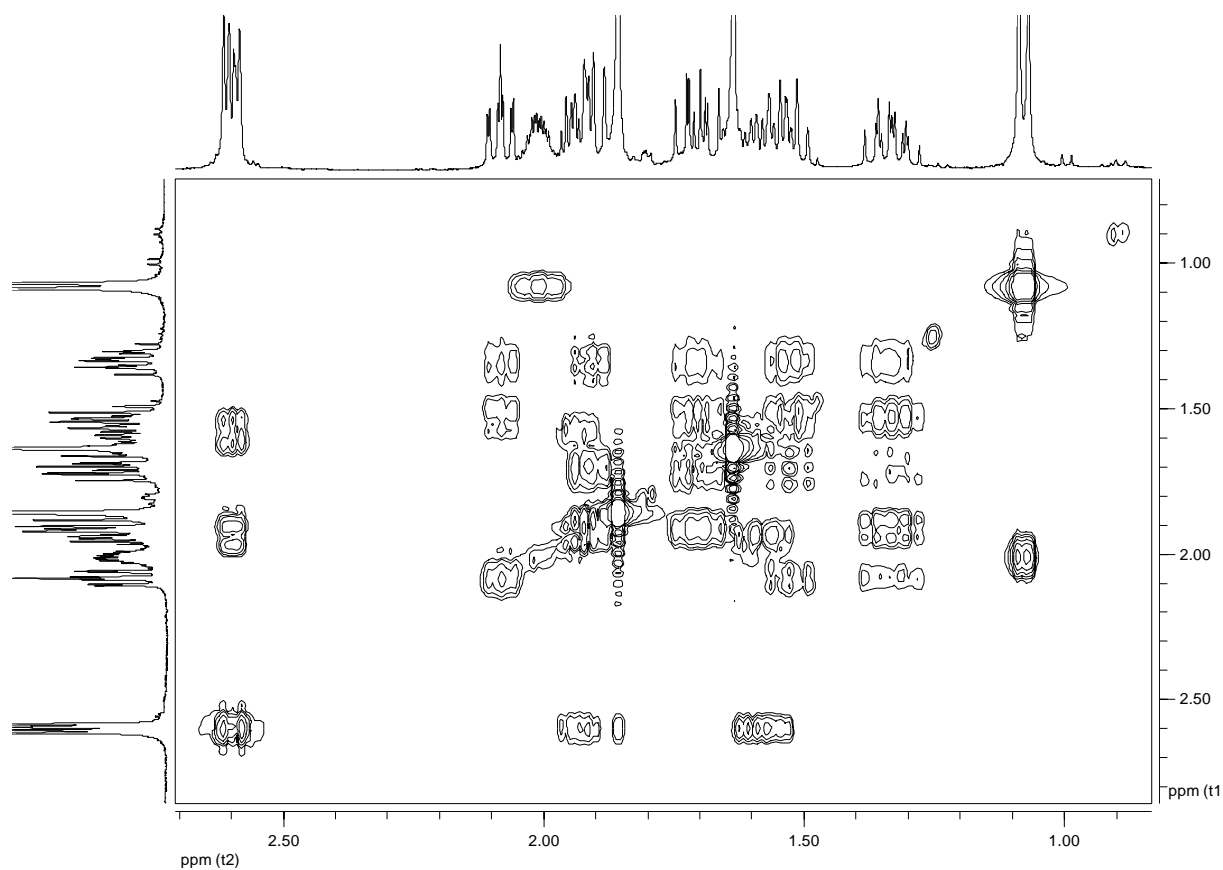
E251. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G2**.



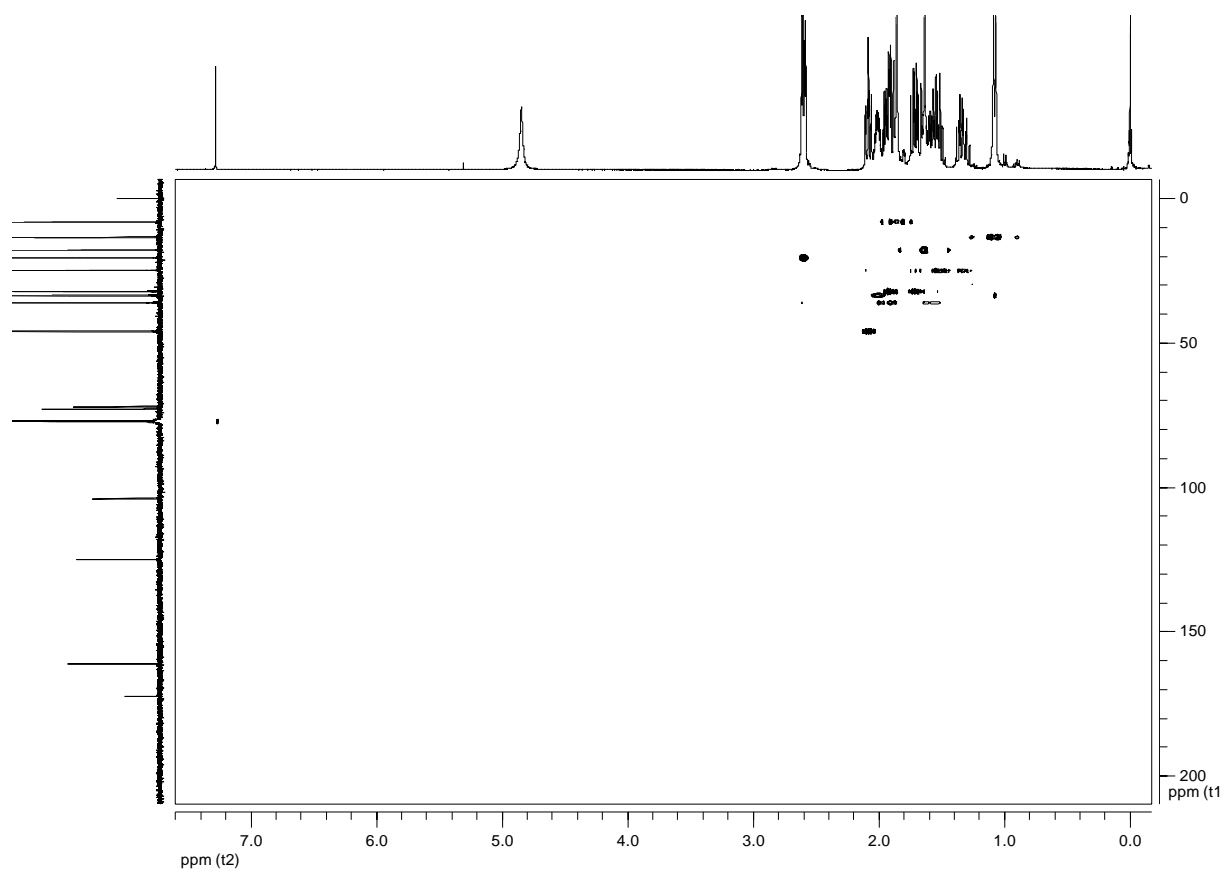
E252. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G2**.



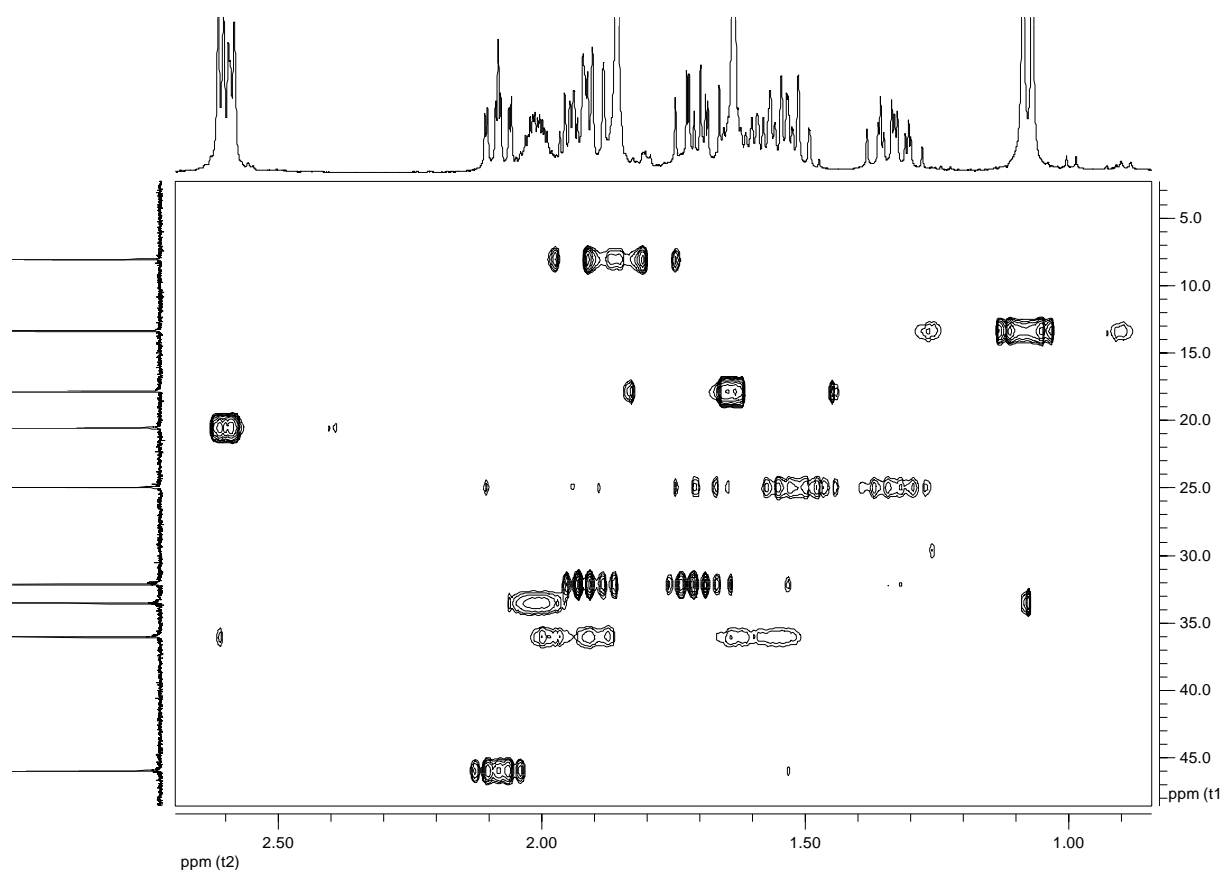
E253. Mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G2**.



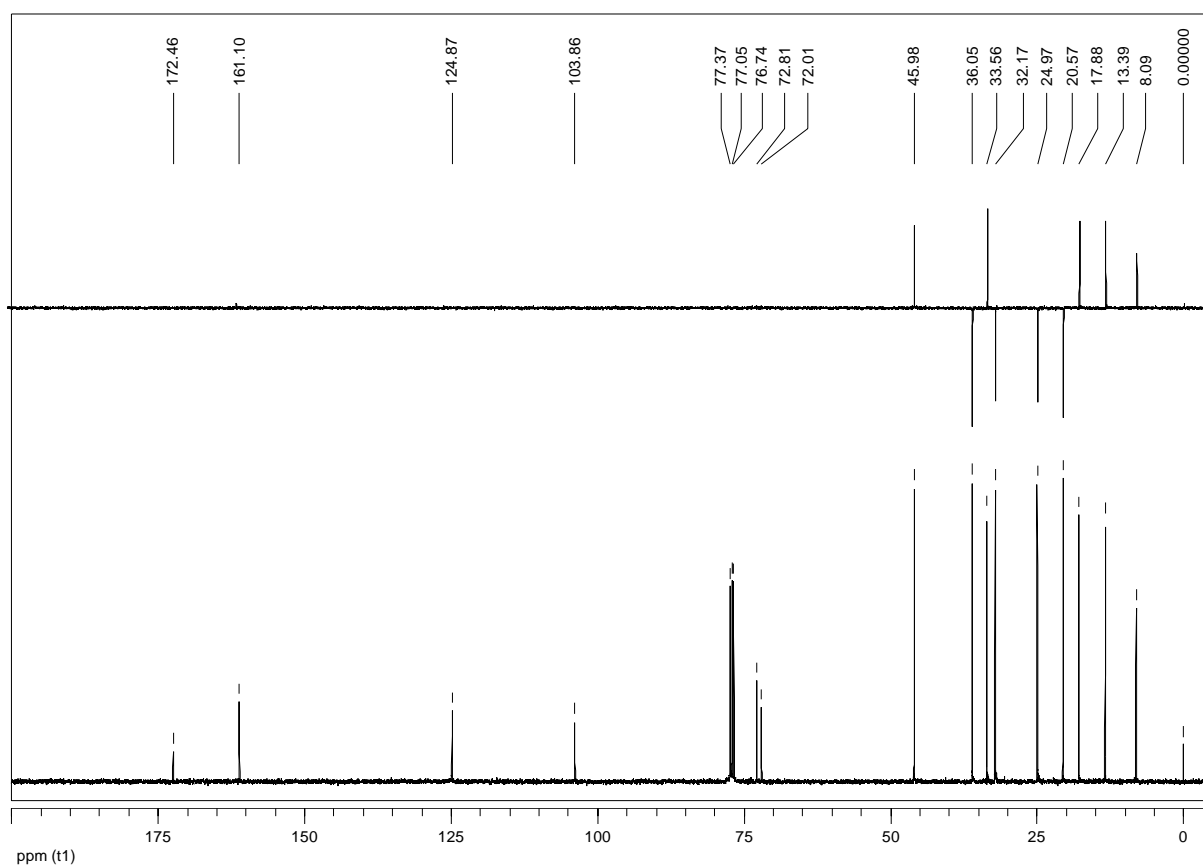
E254. Ampliação do mapa de contorno gCOSY ^1H - ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **G2**.



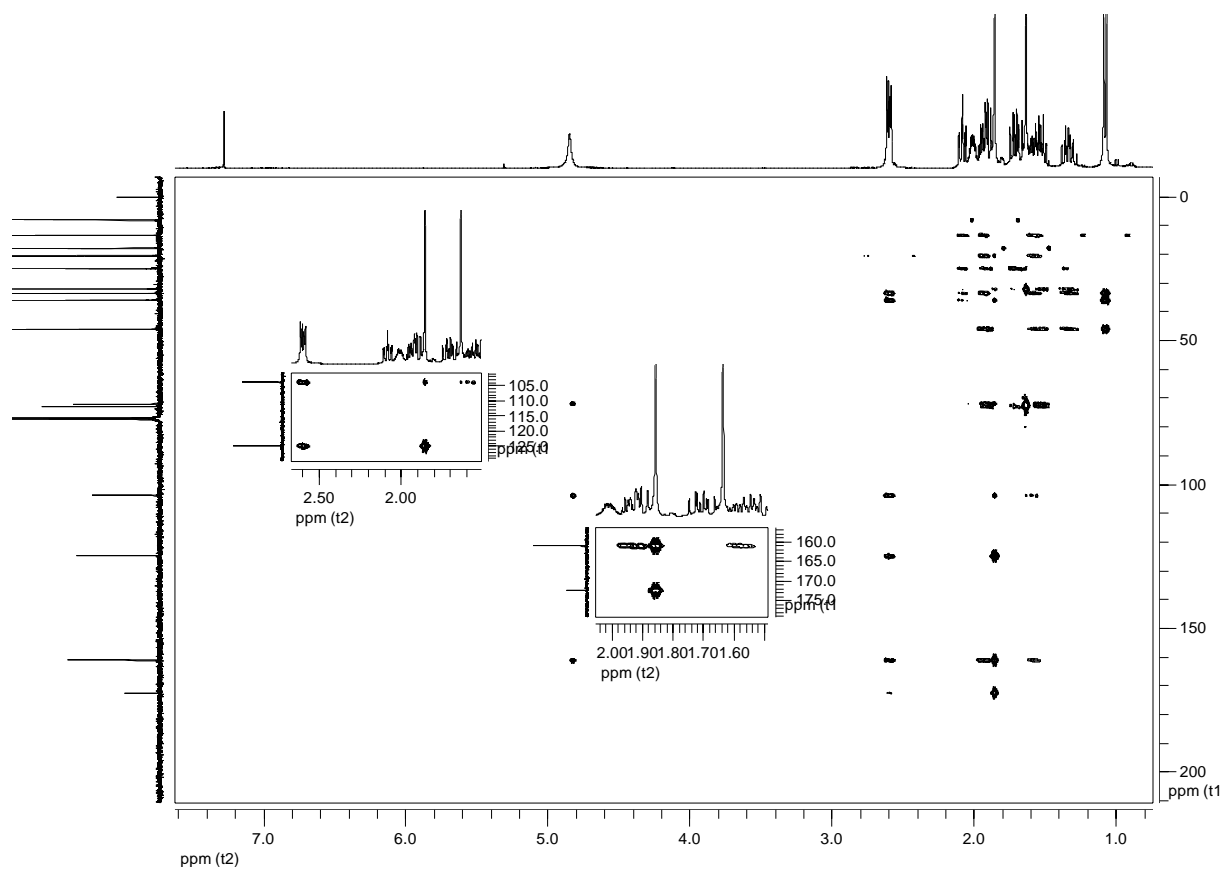
E255. Mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G2**.



E256. Ampliação do mapa de contorno gHSQC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G2**.

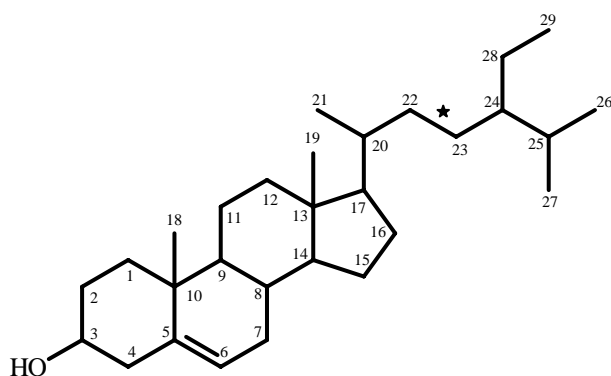


E257. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) de **G2**.



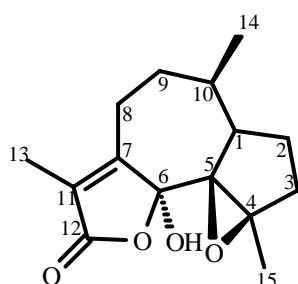
E258. Mapa de contorno gHMBC (H 400 MHz, C 100 MHz, CDCl_3) de **G2**.

ANEXO II
DADOS FÍSICO-QUÍMICOS
DAS SUBSTÂNCIAS
ISOLADAS



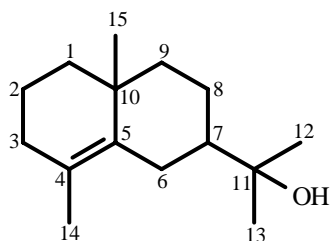
G1A e G1B * ligação dupla

- **Aspecto Físico:** Sólido branco em forma de agulhas. P.F. 138-139°C;
- **IV:** E245.
- **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃): E246.
- **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃): E247, TABELA 60.



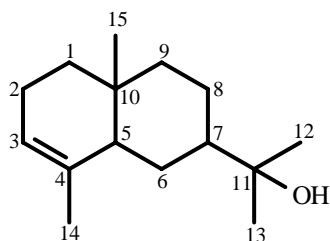
G2

- **Aspecto Físico:** Sólido branco cristalino. P.F. 135-136°C;
- $[\alpha]_D^{25} = -148,04^\circ$ (CHCl₃, *c* 0,53);
- **HRESIMS;** 264,1393 [M⁺] (C₁₅H₂₀O₄ calc. 264,1361), E248;
- **IV:** E249;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 222 (3,64); (CH₃OH, *c* 1,89 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹); E250;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E251, TABELA 61
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E257, TABELA 61.



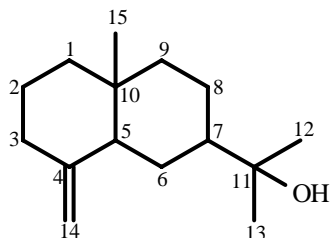
G7

- **Aspecto Físico:** Óleo incolor;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E230;
- **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃): E232, TABELA 57;
- **CG/EM:** 222 [M]⁺.



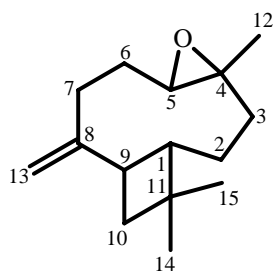
G8

- **Aspecto Físico:** Sólido branco amorfo;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E233;
- **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃): E235, TABELA 57;
- **CG/EM:** 222 [M]⁺.



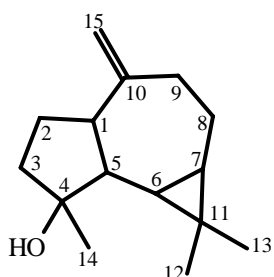
G9

- **Aspecto Físico:** Sólido branco amorfo;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E236;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E238, TABELA 57;
- **CG/EM:** 222 [M]⁺.



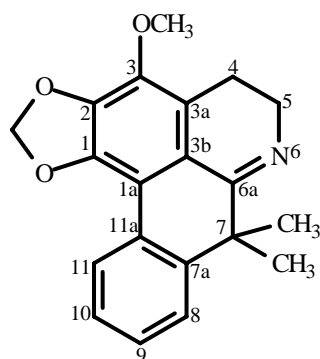
- **Aspecto Físico:** Óleo incolor;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E239, TABELA 58;
- **RMN ^{13}C** (50 MHz, CDCl_3): E241, TABELA 58;
- **CG/EM:** 220 $[\text{M}^+]$.

G11



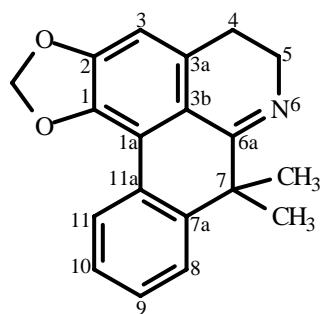
- **Aspecto Físico:** Óleo incolor;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E242, TABELA 59;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E244, TABELA 59;
- **CG/EM:** 220 $[\text{M}^+]$.

G13



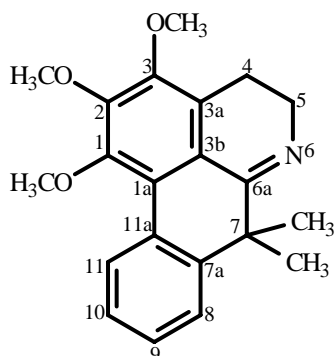
- **Aspecto Físico:** Óleo amarelo claro;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (5,17), 262 (4,50), 296 (3,98) e 336 (3,59); (CH_3OH , c $6,44 \times 10^{-6}$ mol.L^{-1}); E1;
- **IV:** E2;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E3, TABELA 21;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E6, TABELA 21.

G14



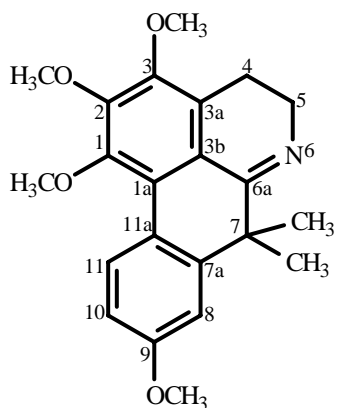
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado amorfo;
- **HRESIMS:** 292,1264 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_2 + \text{H}$ calc. 292,1337), E9;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 208 (4,55), 229 (4,35), 256 (4,55), 272 (4,32), 295 (4,14), 338 (3,91) e 350 (3,87); (CH_3OH , c $2,69 \times 10^{-5}$ mol.L^{-1}); E10;
- **IV:** E11;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E12, TABELA 22;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E13, TABELA 22.

G15



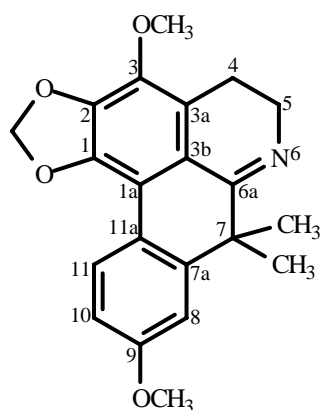
- **Aspecto Físico:** Óleo amarelado;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,40), 232 (4,14), 252 (4,41), 260 (4,49), 291 (3,98) e 336 (3,54); (CH_3OH , c $1,81 \times 10^{-5}$ mol.L^{-1}); E16;
- **IV:** E17;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E18, TABELA 23;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E19, TABELA 23.

G16



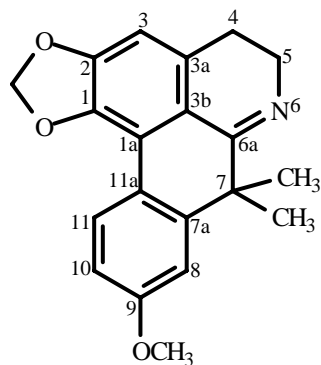
- **Aspecto Físico:** Óleo amarelado;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,25), 214 (4,19), 232 (4,02), 255 (4,24), 264 (4,36), 294 (3,91) e 343 (3,51); (CH₃OH, c 3,24 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E22;
- **IV:** E23;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E24, TABELA 24;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E25, TABELA 24.

G17



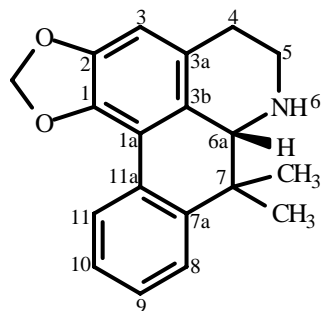
- **Aspecto Físico:** Óleo amarelo claro;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,19), 236 (3,90), 266 (4,23), 272 (4,20), 292 (3,80), 302 (3,84), 318 (3,69) e 347 (3,61); (CH₃OH, c 3,39 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E28;
- **IV:** E29;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E30, TABELA 25;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E31, TABELA 25.

G18



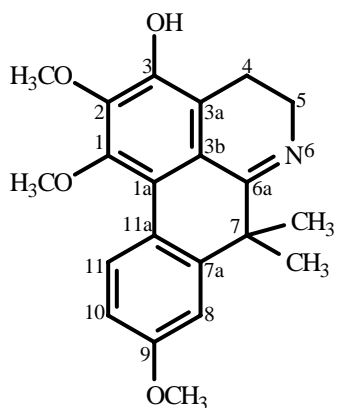
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelo claro;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,08), 230 (3,91), 264 (4,14), 302 (3,78), 318 (3,70), 339 (3,58) e 352 (3,54); (CH₃OH, c 3,71 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E34;
- **IV:** E35;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E36, TABELA 26;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E37, TABELA 26.

G19



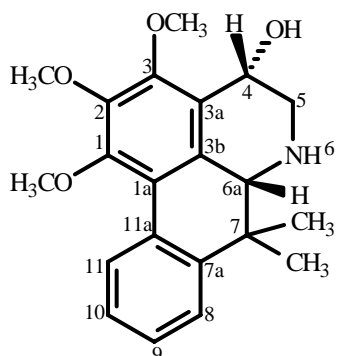
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelo pálido;
- **$[\alpha]_D^{25}$** – 50,74° (CHCl₃, c 1,41);
- **HREIMS;** 294,1470 [M + H⁺] (C₁₉H₁₉NO₂ calc. 294,1494), E40;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 208 (4,30), 217 (4,26), 234 (4,05), 274 (4,07) e 317 (3,53); (CH₃OH, c 4,95 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E41;
- **IV:** E42;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E43, TABELA 27;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E45, TABELA 27.

G20



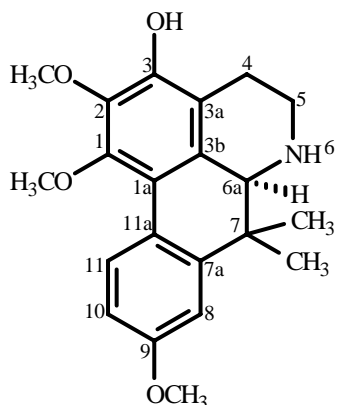
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelado em forma de agulhas;
- **IV:** E48;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,58), 216 (4,56), 233 (4,38), 258 (4,65), 266 (4,74), 294 (4,30), 304 (4,25) e 352 (3,78); (CH₃OH, *c* 1,38 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E49;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E50, TABELA 28;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E51, TABELA 28.

G21



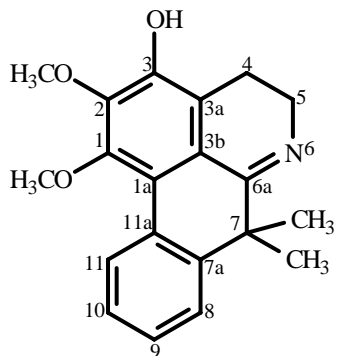
- **Aspecto Físico:** Sólido branco cristalino;
 - $[\alpha]_D^{25} = -84,38^\circ$ (CHCl_3 , c 0,73);
 - **HRESIMS;** 356,2095 $[\text{M} + \text{H}^+]$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ calc. 356,1862), E55;
 - **IV:** E56;
 - **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\log \epsilon$):** 214 (4,50), 219 (4,51) e 278 (4,26); (CH_3OH , c $2,06 \times 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$); E57;
 - **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E58, TABELA 29;
 - **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E59, TABELA 29.

G22



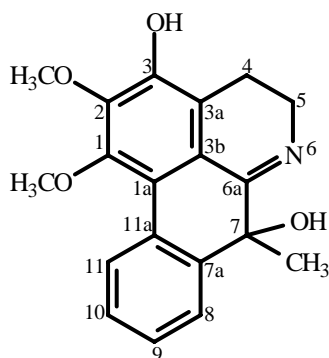
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelado;
- $[\alpha]_D^{25} + 2,70^\circ$ (CHCl₃, *c* 0,37);
- **UV (MeOH)** $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ): 208 (4,15), 222 (4,04), 268 (3,84), 286 (3,90), 302 (3,75) e 351 (2,65); (CH₃OH, *c* 6,40 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E62;
- **IV:** E63;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E64, TABELA 30;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E65, TABELA 30.

G23



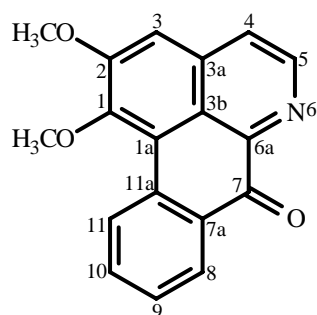
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelado;
- **IV:** E69;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 211 (4,07), 236 (3,95), 256 (3,87), 289 (4,11), 298 (4,17), 342 (3,71) e 418 (3,35); (CH₃OH, c 3,68 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E70;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E71, TABELA 31;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E72, TABELA 31.

G24



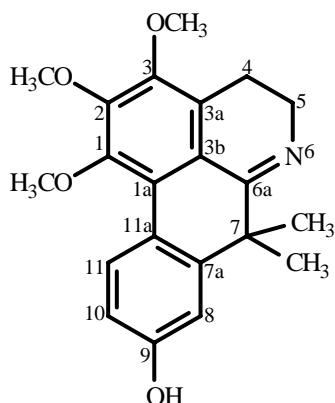
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo verde-escuro;
- $[\alpha]_D^{25} - 9,12^\circ$ (CHCl_3 , c 0,285);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (3,96), 222 (3,78), 236 (3,71), 256 (3,93), 264 (3,99), 292 (3,50) e 344 (3,09); (CH_3OH , c $6,84 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E122;
- **IV:** E123;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E124, TABELA 39;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E127, TABELA 39.

G25



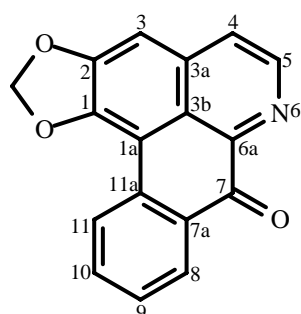
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado em forma de agulhas; P.F. 186-188°C;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,41), 236 (4,30), 269 (4,23), 306 (3,63), 380 (3,62) e 402 (3,64); (CH_3OH , c $3,27 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E139;
- **IV:** E140;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E141, TABELA 41;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E143, TABELA 41.

G26



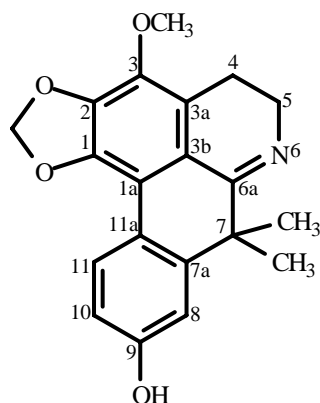
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelo claro;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 214 (4,12), 232 (4,16), 289 (4,06), 301 (4,15), 346 (3,79) e 419 (3,45); (CH_3OH , c $4,57 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E76;
- **IV:** E77;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E78, TABELA 32;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E79, TABELA 32.

G27



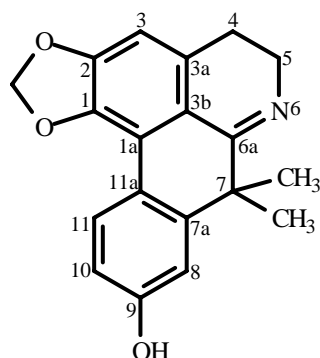
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado em forma de agulhas; P.F. 279-280°C;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,06), 223 (3,77), 248 (3,79), 268 (3,72), 310 (3,28), 361 (3,24) e 416 (3,48); (CH_3OH , c $5,19 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E146;
- **IV:** E147;
- **RMN ^1H** (400 MHz, + gotas de CD_3OD): E141, TABELA 42;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, + gotas de CD_3OD): E149 e E150, TABELA 42.

G28



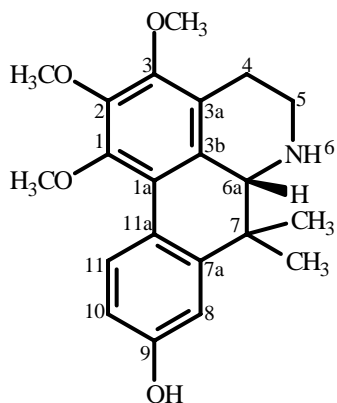
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelo-alaranjado;
- **IV:** E83;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,37), 234 (4,12), 266 (4,46), 294 (4,02), 302 (4,02) e 352 (3,73); (CH_3OH , c $2,39 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E84;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E85, TABELA 33;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E86, TABELA 33.

G29



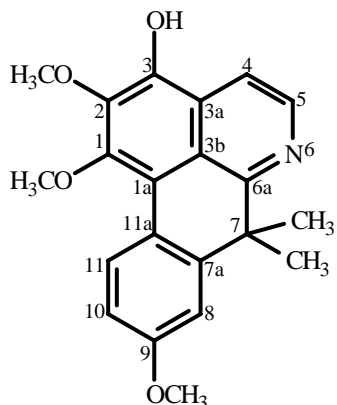
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelo claro;
- **IV:** E89;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,25), 230 (4,06), 266 (4,30), 302 (3,92), 318 (3,83), 342 (3,73) e 352 (3,71); (CH_3OH , c $3,88 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E90;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E91, TABELA 34;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E92 e E93, TABELA 34.

G30



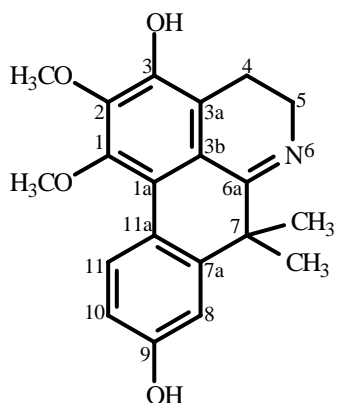
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo claro em forma de agulhas;
- **$[\alpha]_D^{25}$** – 4,00° (CH_3OH , c 0,05);
- **IV:** E94;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 210 (4,59), 222 (4,52), 234 (4,30), 284 (4,35) e 298 (4,24); (CH_3OH , c $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E95;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E96, TABELA 35;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E98, TABELA 35.

G31



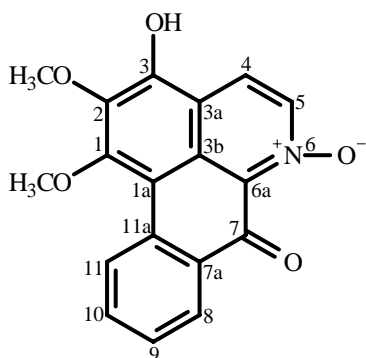
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo marrom escuro;
- **IV:** E101;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,74), 232 (4,60), 258 (4,59), 318 (4,09), 333 (4,19) e 362 (4,20), 366 (4,22) e 370 (4,21); (CH_3OH , c $1,41 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E102;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E103, TABELA 36;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E104 e E93, TABELA 36.

G32



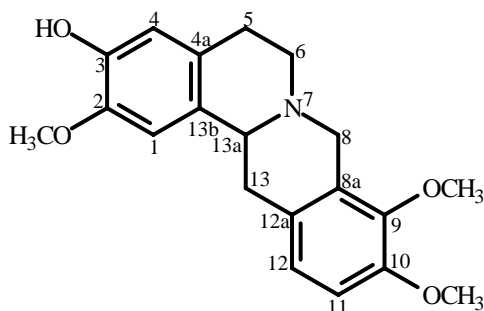
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo amarelado
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,27), 232 (4,04), 258 (4,31), 266 (4,40), 294 (3,96), 304 (3,91) e 354 (3,54); (CH_3OH , c $3,51 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E108;
- **IV:** E109;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E110, TABELA 37;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E111 e E93, TABELA 37.

G33



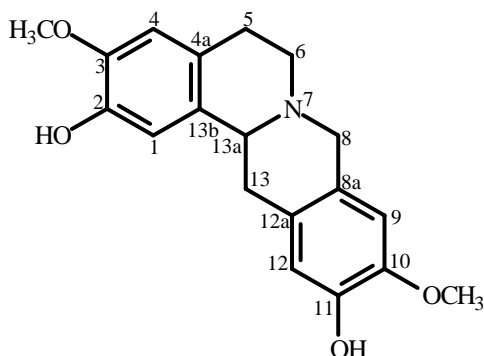
- **Aspecto Físico:** Sólido cristalino azul;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,23), 238 (3,84), 282 (4,01), 304 (3,93), 468 (3,15) e 595 (3,09); (CH_3OH , c $4,99 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E151;
- **IV:** E152;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CD_3OD): E153, TABELA 43;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CD_3OD): E155, TABELA 43.

G34



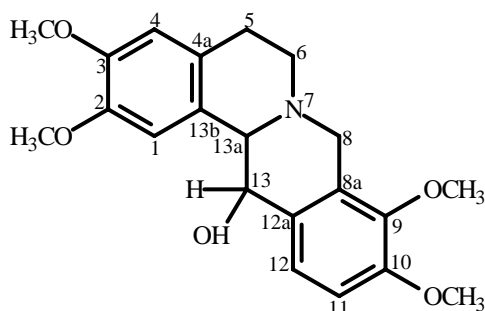
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelo claro em forma de agulhas; P.F. 237-238° C;
- **$[\alpha]_D^{25}$** – 202,50° (CH_3OH , c 0,04);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 272 (2,90), 320 (2,61) e 330 (2,63); (CH_3OH , c $4,40 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);
- **IV:** E185;
- **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E186, TABELA 50;
- **RMN ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E188, TABELA 50.

G35

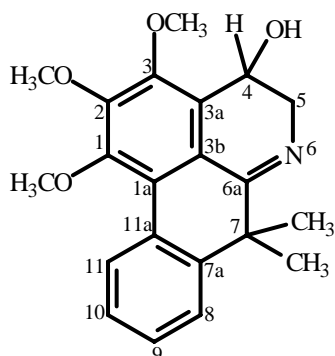


- **Aspecto Físico:** Sólido amarelo claro em forma de agulhas; P.F. 240-241° C;
- **$[\alpha]_D^{25}$** – 200,00° (CH_3OH , c 0,075);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 294 (3,52) e 320 (2,84); (CH_3OH , c $3,06 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);
- **IV:** E193;
- **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E194, TABELA 51;
- **RMN ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD): E196, TABELA 51.

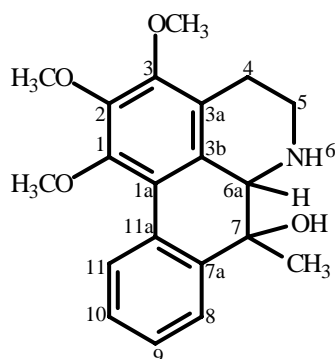
G36

**G37**

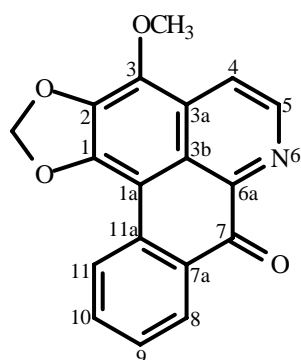
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado em forma de agulhas;
- $[\alpha]_D^{25} - 234,74^\circ$ (CHCl_3 , c 0,095);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,20), 226 (3,71), 280 (3,20) e 347 (2,76); (CH_3OH , c $5,01 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$);
- **IV:** E199;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E200, TABELA 52;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E202, TABELA 52.

**G38**

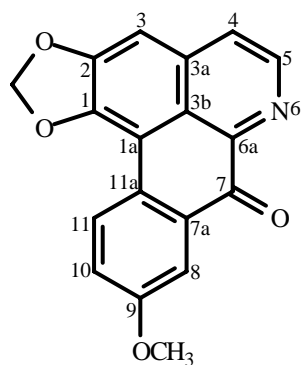
- **Aspecto Físico:** Sólido cristalino amarelo claro;
- $[\alpha]_D^{25} - 198,46^\circ$ (CHCl_3 , c 0,325);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,04), 218 (3,86), 252 (4,00), 260 (4,09), 288 (3,63) e 332 (3,12); (CH_3OH , c $7,37 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E115;
- **IV:** E116;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E117, TABELA 38;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E118, TABELA 38.

**G39**

- **Aspecto Físico:** Sólido cristalino amarelo claro;
- $[\alpha]_D^{25} - 25,80^\circ$ (CHCl_3 , c 0,155);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 211 (4,35), 240 (3,96), 262 (3,95) e 277 (4,01); (CH_3OH , c $1,74 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$); E131;
- **IV:** E132;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E133, TABELA 40;
- **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): E136, TABELA 40.

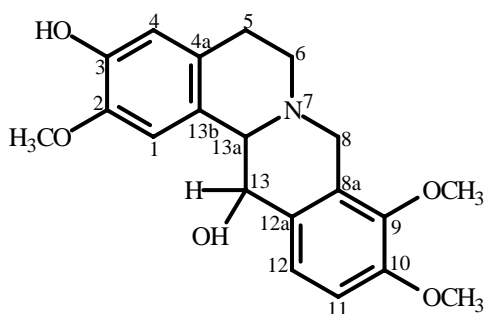
**G40**

- **Aspecto Físico:** Sólido alaranjado escuro; P.F. 283-284°C;
- **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3): E159, TABELA 44.



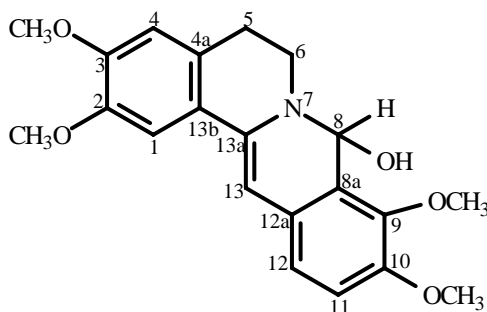
- **Aspecto Físico:** Sólido alaranjado em forma de agulhas; P.F. > 300°C;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (3,62), 224 (3,44), 246 (3,34), 270 (3,23), 280 (3,16) e 4,20 (2,89); (CH₃OH, c 8,00 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E161;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E162, TABELA 45;

G41



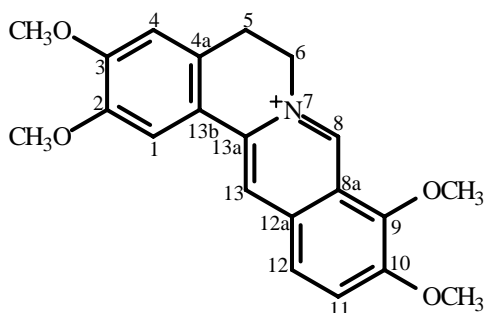
- **Aspecto Físico:** Sólido amorfo marrom escuro;
- **$[\alpha]_D^{25}$** - 71,35° (CH₃OH, c 0,185);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,41), 226 (4,03), 282 (3,64) e 336 (3,30); (CH₃OH, c 2,31 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹);
- **IV:** 3352 cm⁻¹ (OH);
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E205, TABELA 53;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E207, TABELA 53.

G42



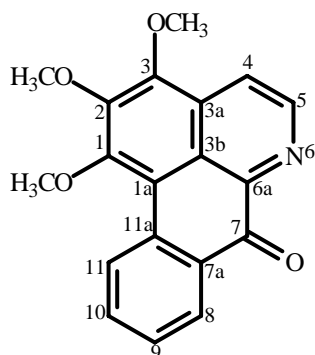
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado em forma de agulhas; P.F. = 187-189 °C;
- **$[\alpha]_D^{25}$** - 4,83° (CHCl₃, c 0,31);
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (3,57), 226 (3,55), 264 (3,46), 282 (3,34), 348 (3,32) e 432 (2,51); (CH₃OH, c 6,16 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹);
- **IV:** E216;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E217, TABELA 55;
- **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): E219, TABELA 55.

G43



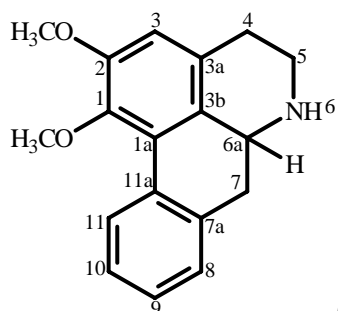
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelado em forma de agulhas; P.F. = 205-207 °C;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 204 (4,24), 228 (4,30), 238 (4,24), 266 (4,30), 274 (4,29), 338 (4,30), 348 (4,31) e 431 (3,62); (CH₃OH, c 2,42 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹);
- **IV:** E223;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E224, TABELA 56;
- **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): E226, TABELA 56.

G44

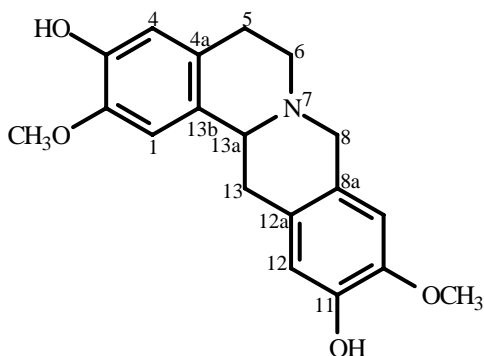


- **Aspecto Físico:** Sólido alaranjado em forma de agulhas; P.F. 187-188 °C;
- **UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ):** 206 (4,52), 232 (4,34), 274 (4,43), 313 (3,72) e 435 (3,78); (CH₃OH, c 2,49 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E164;
- **IV:** E165;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E166, TABELA 46;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E167, TABELA 46.

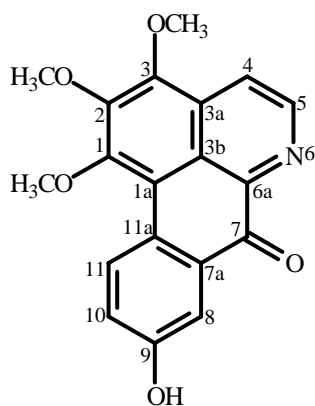
G45

**G46**

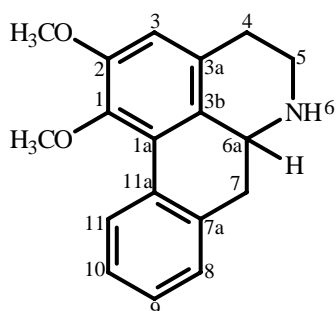
- **Aspecto Físico:** Sólido marrom;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): E176, TABELA 48;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): E177, TABELA 48.

**G47**

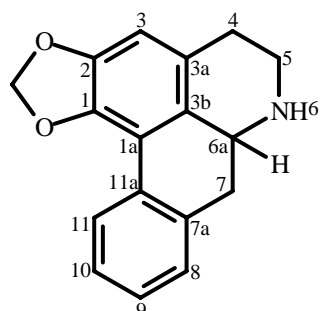
- **Aspecto Físico:** Sólido amarelo pálido em forma de agulhas; P.F. 238-241° C;
- $[\alpha]_D^{25} - 315,30^\circ$ (CH₃OH, *c* 0,065);
- **HREIMS**; 327,1573 [M⁺] (C₂₁H₂₅NO₄ calc. 327,1470), E210;
- **UV (MeOH)** $\lambda_{\text{máx}}$ nm (**log ϵ**): 206 (4,82), 226 (4,20) e 2,88 (3,87); (CH₃OH, *c* 1,25 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹);
- **IV**: 3467 cm⁻¹ (OH);
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E211, TABELA 54;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E213, TABELA 54.

**G48**

- **Aspecto Físico:** Sólido alaranjado em forma de agulhas;
- **UV (MeOH)** $\lambda_{\text{máx}}$ nm (**log ϵ**): 204 (3,89), 238 (3,41), 278 (3,54) e 472 (2,95); (CH₃OH, *c* 9,65 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹); E170;
- **IV**: E171;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E172, TABELA 47;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E173, TABELA 47.

**G49A**

- **Aspecto Físico:** Sólido marrom;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E181, TABELA 47;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E183 e E184, TABELA 49.

**G49B**

- **Aspecto Físico:** Sólido marrom;
- **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E181, TABELA 48;
- **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD): E183 e E184, TABELA 49.

ANEXO III

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

I) Artigos Publicados e Submetidos:

- COSTA, E.V.; TEIXEIRA, S.D.; MARQUES, F.A.; DUARTE, M.C.T.; DELARMELINA, C.; PINHEIRO, M.L.B.; TRIGO, J.R.; MAIA, B.H.L.N.S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatteria* species. *Phytochemistry* 69, 1895-1899, 2008.

- COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; MARQUES, F.A.; BRAGA, R.M.; MAIA, B.H.L.N.S. First report of alkaloids in the genus *Guatteria* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 37, 43-45, 2009.

- COSTA, E.V.; MARQUES, F.A.; PINHEIRO, M.L.B.; VAZ, N.P.; DUARTE, M.C.T.; DELARMELINA, C.; BRAGA, R.M.; MAIA, B.H.L.N.S. 7,7-dimethylaporphine alkaloids from the stem of *Guatteria friesiana* (Annonaceae). *Journal of Natural Products*, submetido.

I) Trabalhos apresentados em congresso, eventos ou resumos:

- COSTA, E.V.; MAIA, B.H.L.N.S.; MARQUES, F.A.; PINHEIRO, M.L.B.; BRAGA, R.M. Aporfinóides do cerne de *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae). In: 31a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia. 31a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2008. v. 31. p. 582-1.

- COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B. ; MARQUES, F.A. ; DELAMERLINA, C. ; DUARTE, M.C.T.; MAIA, B.H.L.N.S. Antimicrobial activity of alkaloids isolated from leaves of *Guatteria friesiana* (Annonaceae). In: X International Congress of Ethnopharmacology, 2008, São Paulo. X International Congress of Ethnopharmacology, 2008. v. X. p. 423-423.

- COSTA, E.V.; MAIA, B.H.L.N.S.; MARQUES, F.A.; CARVALHO, J.E.; PINHEIRO, M.L.B.; KOHN, L.K.; BRAGA, R.M. Alcalóides do cerne de *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae). In: 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia. 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2007. v. 30. p. PN026.

- COSTA, E.V.; MAIA, B.H.L.N.S.; MARQUES, F.A.; PINHEIRO, M.L.B. Alcalóides das folhas de *Guatteria friesiana* (Annonaceae). In: 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia. 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2007. v. 30. p. PN027.

- **COSTA, E.V.**; PINHEIRO, M.L.B. ; MARQUES, F.A.; BRAGA, R.M.; DUARTE, M.C.T.; MAIA, B.H.L.N.S. 7,7-Dimethylaporphine alkaloids from bark of *Guatteriopsis friesiana*. In: VI Simposio Internacional Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones, 2007, Chillán. Libro de Resúmenes VI Simposio Internacional Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones. Chillán: Sociedad Chilena de Química, 2007. v. VI. p. 47-47.

- **COSTA, E.V.**; PINHEIRO, M.L.B.; MARQUES, F.A.; BRAGA, R.M.; DUARTE, M.C.T.; MAIA, B.H.L.N.S. Aporphine type alkaloids from bark of *Guatteriopsis friesiana* (Annonaceae). In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (BCNP), 2007, São Pedro. 1st Brazilian Conference on Natural Products (BCNP). São Pedro: Sociedade Brasileira de Química, 2007. v. 1. p. BPS180.

- **COSTA, E.V.**; MAIA, B.H.L.N.S.; MARQUES, F.A.; DUARTE, M.C.T.; PINHEIRO, M.L.B.; DELAMERLINA, C.; KOHN, L.K. Lactona sesquiterpênica das cascas de *Guatteriopsis friesiana* (Annonaceae). In: 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia-SP. 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química. v. 29. p. 22.



Contents lists available at ScienceDirect

Phytochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/phytochem

Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatterioopsis* species

Emmanoel V. Costa^a, Sirlei D. Teixeira^b, Francisco A. Marques^a, Marta C.T. Duarte^c, Camila Delarmelina^c, Maria Lúcia B. Pinheiro^d, José R. Trigo^e, Beatriz Helena L.N. Sales Maia^{a,*}

^a Department of Chemistry, Federal University of Paraná (UFPR), P.O. Box 19081, 81531-990 Curitiba, PR, Brazil

^b UNICS, P.O. Box 221, 85555-000 Palmas, PR, Brazil

^c Research Center for Chemistry, Biology and Agriculture (CPQBA), UNICAMP, 13140-000 Campinas, SP, Brazil

^d Department of Chemistry, Federal University of Amazonas (UFAM), 69077-000 Manaus, AM, Brazil

^e Institute of Biology, UNICAMP, P.O. Box 6109, 13083-970 Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 October 2006

Received in revised form 9 January 2008

Available online 19 May 2008

Keywords:

Guatterioopsis blepharophylla

Guatterioopsis friesiana

Guatterioopsis hispida

Annonaceae

Antimicrobial activity

Essential oil

ABSTRACT

The essential oils of *Guatterioopsis blepharophylla*, *Guatterioopsis friesiana* and *Guatterioopsis hispida* were obtained by hydrodistillation and analysed by GC and GC/MS. The main compound found in the leaf oil of *G. blepharophylla* was caryophyllene oxide (**1**) (69.25%). The leaf oil of *G. friesiana* contained predominantly β -eudesmol (**2**) (51.60%), γ -eudesmol (**3**) (23.70%), and α -eudesmol (**4**) (14.56%). The major constituents identified in the leaf of *G. hispida* were β -pinene (38.18%), α -pinene (30.77%) and (*E*)-caryophyllene (20.59%). The antimicrobial activity of the essential oils was evaluated against 11 species of microorganisms. The oil of *G. friesiana* exhibited significant antimicrobial activity for all microorganisms tested, whereas that of *G. hispida* and *G. blepharophylla* had potent activity against *Rhodococcus equi* with MIC of 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The major constituents of each oil were also tested separately, and showed lower activity compared to the oils. Moreover, mixtures of the main constituents, in the same proportions found in *G. friesiana* and *G. hispida* oils, did not show the same activity as the original oils.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The Annonaceae is a large family of tropical and subtropical trees and shrubs comprising about 120 genera and more than 2000 species (Leboeuf et al., 1982). Economically, it is has appreciable importance as a source of edible fruits, raw material for the cosmetics and perfume industries, and as medicinal plants (Leboeuf et al., 1982; Boyom et al., 2003; Braga, 1976; Gemtchújnicov, 1976). Despite the importance of the members of this family in folk medicine, the number of species that have been chemically investigated is still small (ca 150 species belonging to 41 genera) (Castedo et al., 1991). The main chemical constituents in this family are alkaloids, carbohydrates, lipids, aminoacids, proteins, polyphenols, terpenes, aromatic compounds and acetogenins (Leboeuf et al., 1982; Rupprecht et al., 1990). Although the Annonaceae have a wide diversity of chemical constituents, most studies have focused on their alkaloidal contents, which are of chemotaxonomic relevance (Castedo et al., 1991). *Guatterioopsis* is a small genus in this family known as “envireira”, comprising about four species of small trees, of which the majority is distributed throughout Central and South America (Hutchinson, 1964). Only one phytochem-

ical study on this genus has been reported, which describes the isolation and identification of essential oils from the leaf of *Guatterioopsis blepharophylla* (Maia et al., 2005). However, there is nothing reported involving the biological activities of either the compounds or the extracts from this genus.

In the present paper we report the chemical compositions and antimicrobial activities of the essential oils from leaves of *G. blepharophylla*, *Guatterioopsis friesiana* and *Guatterioopsis hispida*, three species of Amazon Brazilian plants.

The plant species were selected based on the fact that many species of this family are used in traditional medicine for various purposes (Boyom et al., 2003; Braga, 1976; Gemtchújnicov, 1976) and on the absence of more detailed phytochemical (except *G. blepharophylla*) and biological studies.

The three species present themselves as a small tree known as “envireira”, with a thick yellowish bark, found mainly in Brazilian Amazon (Ribeiro et al., 1999) having no popular uses described in the academic literature.

2. Results and discussion

The leaf essential oils were obtained from the plants with 0.24%, 0.50% and 0.41% yield (relative to dried material weight) respectively for *G. blepharophylla*, *G. friesiana* and *G. hispida*. The results

* Corresponding author. Tel.: +55 41 33613177; fax: +55 41 33613186.
E-mail address: noronha@ufpr.br (Beatriz Helena L.N. Sales Maia).



First report of alkaloids in the genus *Guatteriopsis* (Annonaceae)

Emmanoel V. Costa^a, Maria Lúcia B. Pinheiro^b, Francisco A. Marques^a,
Raquel M. Braga^c, Beatriz Helena L.N. Sales Maia^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, PO Box 19081, Curitiba, PR 81531-990, Brazil

^b Departamento de Química, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, Coroado, Manaus, AM 69077-000, Brazil

^c Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, PO Box 6154, Campinas, SP 13083-970, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 June 2008

Accepted 8 November 2008

Keywords:

Guatteriopsis blepharophylla

Guatteriopsis

Annonaceae

Alkaloids

1. Subject and source

Guatteriopsis (R.E. Fries) is a small genus made up of five species (*Guatteriopsis blepharophylla*, *Guatteriopsis friesiana*, *Guatteriopsis hispida*, *Guatteriopsis kuhlmannii* and *Guatteriopsis ramiflora*) occurring in tropical South America. According to Erkens et al. (2007) the species in the genus *Guatteriopsis* should be transferred to *Guatteria*.

G. blepharophylla (Mart.) R.E. Fries (Annonaceae) is a small tropical tree that occurs in Amazonian region (Brazil, Peru, Guyana, Ecuador and Venezuela) (Erkens et al., 2007). In Brazil this species is common in the states of Amazonas and Pará, where it is known as “envireira” (Ribeiro et al., 1999). Botanical material (stem) was collected in January 2005 on the campus of the Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, and identified by the specialist Prof. Dr. A. C. Webber. A voucher specimen (#7340) has been deposited at the Herbarium of the Universidade Federal do Amazonas.

2. Previous work

Two previous phytochemical studies on this species have described the isolation and identification of essential oils from its leaves (Maia et al., 2005; Costa et al., 2008).

3. Present study

The dried and powdered stem (2300 g) was repeatedly extracted with hexane followed by MeOH to yield hexane (24.2 g) and MeOH (95.0 g) extracts. TLC investigations indicated a high concentration of alkaloids in the MeOH extract. Therefore, an aliquot of the MeOH extract (92.0 g) was initially subjected to an acid–base extraction (Costa et al., 2006) to give the alkaloid fraction (1.27 g). Next, this fraction (1.0 g) was subjected to neutral aluminum oxide column chromatography (CC) using

* Corresponding author. Tel.: +55 41 33613472; fax: +55 41 33613186.

E-mail address: noronha@ufpr.br (B.H.L.N.S. Maia).